

Artigo de Revisão Bibliográfica
Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina

DIROFILARIOSE HUMANA:
ZOONOSE NEGLIGENCIADA OU DESCONHECIDA?

Ana Luísa Nobre de Matos Pereira Vieira

Orientador: Professor Doutor António Guilherme de Almeida Gonçalves

Co-orientador: Doutor Carlos Filipe Afonso de Carvalho

Porto, 2016

DIROFILARIOSE HUMANA: ZONOSE NEGLIGENCIADA OU DESCONHECIDA?

Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Medicina

submetida ao Instituto Abel Salazar

Ano Letivo: 2015/2016

Ana Luísa Nobre de Matos Pereira Vieira

Aluna do 6.º ano profissionalizante do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº 228, 4050-313 Porto, Portugal

Orientador: Professor Doutor António Guilherme de Almeida Gonçalves

Professor Associado com Agregação

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Co-orientador: Doutor Carlos Filipe Afonso de Carvalho

Professor Auxiliar Convidado, a 30%

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto;

Tese redigida de acordo com as regras preconizadas pela Comissão de Vancouver.

Texto redigido ao abrigo do novo acordo ortográfico em vigor.

**“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.**
(Madre Teresa de Calcutá)

AGRADECIMENTOS

Os meus mais sinceros agradecimentos:

Ao Professor Doutor António Guilherme de Almeida Gonçalves por ter aceite o desafio de me orientar, pela sua competência científica, profissionalismo, disponibilidade e generosidade.

Ao Doutor Carlos Filipe Afonso de Carvalho agradeço a co-orientação desta tese e o contributo na sua elaboração.

À minha Família, as palavras nunca serão suficientes para expressar a minha imensa gratidão; agradeço a confiança inabalável, o apoio incondicional, o carinho inesgotável e todos os sacrifícios feitos. Um bem-haja do tamanho do mundo.

Aos meus Amigos, por compreenderem as minhas ausências e por continuarem a ser meus amigos.

Ao meu marido João Machado pela paciência e disponibilidade incondicional e permanente colaboração ao longo deste percurso.

À Mariana, por ser parte de mim.

RESUMO

Introdução: A dirofilariose é uma doença parasitária causada por um nemátode da espécie *Dirofilaria immitis*, sendo considerada uma antroponose pela Organização Mundial de Saúde, desde 1979. Apesar de ser uma doença emergente na população canina, o seu carácter zoonótico tem recebido pouca atenção.

Objetivo: O presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão sistemática da literatura científica sobre a dirofilariose pulmonar humana, com o propósito de reunir, de forma organizada, informações sobre a zoonose.

Desenvolvimento: A *Dirofilaria immitis* necessita de vetores (mosquitos culicídeos) dos géneros *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, para completar o seu ciclo de vida. Os hospedeiros definitivos podem ser canídeos, felídeos, mustelídeos, primatas e o homem. As dirofilárias adultas localizam-se na artéria pulmonar, podendo também afetar o coração direito e libertam na circulação as microfilarías (estadio larvar L1). Apesar da sua longa história e da existência no mercado de métodos de profilaxia eficazes, a *Dirofilaria immitis* continua a disseminar-se e a instalar-se em zonas consideradas não endémicas. Fatores, como o aquecimento global, o aumento da população de mosquitos, o movimento de hospedeiros entre países e a abundância de reservatórios, têm contribuído para essa disseminação.

Os humanos são considerados hospedeiros acidentais e o risco aumenta em áreas endémicas de dirofilariose canina. A localização pulmonar das lesões de *Dirofilaria immitis* no hospedeiro humano faz com que o diagnóstico e o tratamento sejam um desafio. Devido às dificuldades em diagnosticar a dirofilariose pulmonar humana, os casos descritos não refletem o risco verdadeiro da *Dirofilaria immitis* para a saúde pública.

Conclusão: A informação epidemiológica sobre a dirofilariose pulmonar humana em Portugal é escassa, existindo um desconhecimento geral da comunidade médica sobre a parasitose. Reforça-se a necessidade de uma estratégia multidisciplinar para o conhecimento da epidemiologia atual e para a divulgação da zoonose à comunidade médica.

Palavras Chave: *Dirofilaria immitis*, Dirofilariose Pulmonar Humana, Humanos, Nódulo Pulmonar, Saúde Pública

ABSTRACT

Introduction: *Dirofilariasis*, or “heartworm disease”, is a parasitic disease caused by the nematode species *Dirofilaria immitis*, and is considered as an anthroponosis by the World Health Organization since 1979. Despite being an emerging disease in the canine population, its zoonotic character has received little attention until now.

Objective: This study aims to perform a systematic review of the scientific literature on human pulmonary heartworm disease, with the purpose of gathering organized information on this zoonosis.

Development: *Dirofilaria immitis* relies on arthropod vectors (mosquitoes from the culicidae family) of the genera *Culex*, *Aedes* and *Anopheles*, to complete its life cycle. The definitive hosts may be canids, felids, mustelids, primates and humans. Adult heartworms are primarily located in the pulmonary artery, but may also affect the right heart and release microfilariae into circulation (larval stage L1). Despite its long history and the existence of effective prophylactic methods, *Dirofilaria immitis* continues to spread geographically and settle in areas considered non-endemic. Factors such as global warming, the increase in mosquito populations, the movement of hosts between countries and the existence of many reservoirs have contributed to this spread.

Humans are considered accidental hosts of this disease and the risk is increased in endemic areas of canine heartworm disease. The location of *Dirofilaria immitis* lung lesions in the human host poses a diagnostic challenge. Because of the difficulties in diagnosing human pulmonary heartworm disease, it is believed that the cases described thus far do not reflect the true risk of *Dirofilaria immitis* to the public health.

Conclusion: The epidemiological information on human pulmonary heartworm disease in Portugal is scarce and there is a general lack of knowledge of the medical community on the parasitosis. In this setting, it is important to develop multidisciplinary strategies to better understand the epidemiology and to share the features of this zoonosis with the medical community.

Key Words: *Dirofilaria immitis*, Human Pulmonary Heartworm, Human, Lung Nodule, Public Health

LISTAS DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Cm	Centímetros
Cx.	<i>Culex spp.</i>
<i>D. ailure</i>	<i>Dirofilaria ailure</i>
<i>D. freitasi</i>	<i>Dirofilaria freitasi</i>
<i>D. immitis</i>	<i>Dirofilaria immitis</i>
<i>D. lutrae</i>	<i>Dirofilaria lutrae</i>
<i>D. repens</i>	<i>Dirofilaria repens</i>
<i>D. spectans</i>	<i>Dirofilaria spectans</i>
<i>D. tenuis</i>	<i>Dirofilaria tenuis</i>
<i>D. ursi</i>	<i>Dirofilaria ursi</i>
ELISA	“Enzyme linked immunosorbent assay”
Et al.	E outros
EUA	Estados Unidos da América
Ig	Imunoglobulina
L1	Primeiro estado larvar
L2	Segundo estado larvar
L3	Terceiro estado larvar
L4	Quarto estado larvar
L5	Quinto estado larvar
mm	Milímetros
N	Norte
°C	Graus celsius
OIE	Organização internacional de epizootias
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina

S	Sul
<i>Spp.</i>	Espécie
WSP	Proteína de superfície da <i>Wolbachia spp.</i>
µm	Micrómetro

ÍNDICE GERAL

A. INTRODUÇÃO.....	1
B. OBJETIVO.....	1
C. METODOLOGIA.....	1
D. DIROFILARIOSE PULMONAR HUMANA.....	2
1. O que é a dirofilariose pulmonar humana.....	2
2. Etiologia.....	2
2.1. Taxonomia.....	2
2.2. Morfologia da <i>Dirofilaria immitis</i>	2
3. Dirofilaria Canina.....	3
3.1. Ciclo de vida.....	3
3.2. Epidemiologia.....	4
3.2.1. A <i>Dirofilaria immitis</i> no hospedeiro invertebrado.....	4
3.2.2. Distribuição global da <i>Dirofilaria immitis</i> no hospedeiro definitivo.....	5
3.2.3. Distribuição da <i>Dirofilaria immitis</i> no hospedeiro definitivo em Portugal..	6
3.3. Patogenia.....	6
3.4. Sinais Clínicos.....	7
3.5. Diagnóstico.....	8
3.5.1. Diagnóstico laboratorial.....	8
3.5.2. Diagnóstico imagiológico.....	9
3.6. Tratamento.....	10
3.7. Rastreio e profilaxia.....	10
4. Dirofilaria Pulmonar Humana.....	11
4.1. Ciclo de vida.....	11
4.2. Epidemiologia da dirofilariose pulmonar humana.....	11
4.2.1 Revisão restrospectiva.....	11
4.2.2 Estudos serológicos: a outra face da infeção.....	13
4.2.3. Dirofilariose pulmonar humana em Portugal.....	14
4.3. Patogenia.....	14
4.4. Sintomatologia.....	15
4.5. Diagnóstico.....	15
4.6. Tratamento.....	17
E. CONCLUSÃO.....	19
F. BIBLIOGRAFIA.....	21
G. ANEXOS.....	31
Anexo 1.....	31
Anexo 2.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Microfilária de <i>Dirofilaria immitis</i> , no exame direto de sangue fresco de cão (x400) (Foto da autoria de Ana Vieira).....	3
Figura 2	Ciclo de vida da <i>Dirofilaria immitis</i> . Legenda: L1 – primeiro estado larvar, L2 – segundo estado larvar, L3 – terceiro estado larvar, L4 – quarto estado larvar, L5 – quinto estado larvar.....	3
Figura 3	Artéria pulmonar e ventrículo direito de um cão com infeção grave por adultos de <i>Dirofilaria immitis</i> (Foto da autoria de Ana Vieira)....	7
Figura 4	Microfilária de <i>Dirofilaria immitis</i> , na técnica de Knott modificado (x 400) (Foto da autoria de Ana Vieira).....	9
Figura 5	Ecocardiografia de um cão infetado com <i>Dirofilaria immitis</i> . Os parasitas aparecem como estruturas com conformação de dupla linha paralela, na aurícula direita (setas) (Foto da autoria de Ana Vieira).....	9
Figura 6	Ecocardiografia em corte parasternal direito de um cão gravemente infetado com <i>Dirofilaria immitis</i> . (síndrome da veia cava - icterícia, hemoglobinúria e hemoglobinémia). Massa composta por aglomerado de parasitas a nível da válvula (Foto da autoria de Ana Vieira).....	10
Figura 7	“One Health”. Adaptado de OIE.....	19

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1	Dados epidemiológicos da dirofilariose humano na Europa. Adaptado de Simón <i>et al.</i> , (2012).....	12
Quadro 2	Características da infeção por <i>Dirofilaria immitis</i> em humanos com localização pulmonar.....	31
Quadro 3	Características da infeção por <i>Dirofilaria immitis</i> em humanos com localização extrapulmonar.....	35

A. INTRODUÇÃO

A dirofilariose, causada pelo parasita nemátode *Dirofilaria immitis* (descrita por Leidy 1856), é uma antroponose emergente (1, 2). Apesar de ser reconhecida há mais de 300 anos, o seu carácter zoonótico tem recebido pouca atenção pela comunidade médica (1, 2).

A *Dirofilaria immitis* (*D. immitis*) está descrita nos cinco continentes. Na Europa, distribui-se principalmente pelos países do sul (Itália, Grécia, Espanha, Portugal e sul de França). No entanto, continua a disseminar-se e a expandir-se pelo mundo, apesar de existirem medidas de profilaxia eficazes (3).

A sua ocorrência está intimamente ligada à presença de vetores (mosquitos culicídeos), condições climáticas favoráveis, presença de hospedeiros definitivos competentes, assim como o trânsito destes entre áreas endémicas e não endémicas (4).

Os seres humanos são hospedeiros acidentais e têm sido reportados casos clínicos, principalmente, em áreas onde a dirofilariose é endémica (3). A infeção caracteriza-se por um comprometimento do parênquima pulmonar, com o desenvolvimento de nódulos pulmonares localizados perto dos ramos das artérias pulmonares, devido à presença do parasita imaturo (4, 5). Neste hospedeiro, o parasita habitualmente não atinge o estado adulto e a microfilarémia (forma larvar L1) está ausente (2, 3).

Embora as lesões sejam benignas, na maioria dos casos são necessários procedimentos diagnósticos invasivos com potencial iatrogénico e custos elevados, de modo a descartar diagnósticos diferenciais de doenças mais graves como neoplasia pulmonar, tuberculose, entre outras (2, 3).

Em áreas endémicas, a dirofilariose humana deve ser um diagnóstico diferencial de uma lesão nodular pulmonar (2). Os estudos serológicos indicam que o contacto com o parasita é mais frequente que os casos clínicos descritos e que a maioria das infeções é assintomática (5).

Esforços futuros devem ser redirecionados para o desenvolvimento de meios de diagnóstico não invasivos e rastreios, para aferir a importância da dirofilariose pulmonar humana (2, 3).

B. OBJETIVO

Esta revisão bibliográfica tem por objetivo abordar a dirofilariose pulmonar humana de forma completa e atualizada, de modo a contribuir para um maior conhecimento desta zoonose e avaliar o possível impacto para a saúde pública.

C. METODOLOGIA

Para a realização desta dissertação foi feita uma pesquisa bibliográfica com recurso a artigos científicos pesquisados no PubMed e no Science Direct. A pesquisa foi feita utilizando as seguintes palavras-chave: *Dirofilaria immitis*, Dirofilariose Pulmonar Humana, Humanos, Nódulo Pulmonar, Saúde Pública e os artigos encontrados foram selecionados por nome e ano de publicação. Foi dada preferência a artigos publicados há menos de 10 anos, embora artigos mais antigos também tenham sido utilizados, dada a sua relevância para o tema. Foram excluídos os artigos que se referiam a outras espécies de *Dirofilaria spp.*

D. DIROFILARIOSE PULMONAR HUMANA

1. O que é a dirofilariose pulmonar humana?

A dirofilariose pulmonar humana foi considerada, desde 1979, uma antroponose pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (6). É uma doença parasitária que pode afetar o ser humano, causada por parasitas do género *Dirofilaria*, que infetam primariamente o cão e o gato (7).

São vários os nemátodes filaróides que afetam mamíferos e que podem ocasionalmente infetar humanos, sendo as espécies *D. immitis* e *D. repens* responsáveis pela maioria dos casos (7).

A primeira descrição do parasita *Dirofilaria immitis* foi feita em Itália, em 1626, por Francesco Birago, que publicou um tratado de caça onde referia a observação do parasita no coração direito de um cão (8-11). Nos Estados Unidos da América (EUA), a primeira descrição publicada da doença em cães foi realizada pelo físico Osborne, em 1847, no periódico *The Western Journal of Medicine and Surgery* (12).

A primeira descrição da presença da *D. immitis* num humano foi realizada em 1887, por Magalhães, num rapaz do Rio de Janeiro, Brasil. Segundo os registos, foram encontrados dois parasitas no ventrículo esquerdo, um adulto macho e uma fêmea (2, 13). Nos EUA, não há relatos de infeções em humanos antes de 1940 e, desde então, foi considerada uma zoonose emergente (14). Em 1941, foi descrita num cadáver de uma mulher, em Nova Orleans. Em 1954, foi descrita por Moore um caso de dirofilariose pulmonar. No Japão, o primeiro caso de dirofilariose pulmonar foi descrito em 1970 (2, 3).

Nas áreas endémicas de dirofilariose canina, o contacto entre as pessoas residentes e a *Dirofilaria immitis* é frequente. No entanto, só uma pequena parte delas vai desenvolver manifestações clínicas. Por isso, o termo “dirofilariose humana” deve incluir tanto os casos sintomáticos, como os casos assintomáticos, uma vez que não é possível determinar em que pessoas e em que momento se vão desenvolver alterações clínicas (7).

2. Etiologia

2.1. Taxonomia

A *Dirofilaria immitis* pertence ao filo Nematoda, classe Secernentea, ordem Spirurida, subordem Spirurina, superfamília Filarioidea, família Onchocercidae, subfamília Dirofilarinae, género *Dirofilaria* e sub-género *Dirofilaria* (15-17).

O género *Dirofilaria* está dividido em dois subgéneros: o subgénero *Dirofilaria*, que inclui a *Dirofilaria immitis* e outros parasitas que habitam as cavidades cardíacas (*D. ailure*, *D. spectans*), as cavidades cardíacas e o tecido subcutâneo (*D. lutrae*) e a cavidade abdominal (*D. freitasi*); e o subgénero *Nochtiella*, que inclui parasitas dos tecidos, como a *Dirofilaria repens*, *D. tenuis* e *D. ursi*. Ambos os subgéneros podem parasitar o ser humano (2, 12, 17).

2.2. Morfologia da *Dirofilaria immitis*

Os adultos de *Dirofilaria immitis* são filiformes, longos, com uma coloração esbranquiçada, sendo revestidos por uma camada externa, a cutícula, que lhe confere resistência (12). Encontram-se, sobretudo, nas artérias pulmonares e ventrículo direito dos seus hospedeiros. Alimentam-se do plasma, podendo chegar a viver 5 anos no

hospedeiro. A locomoção é realizada através de movimentos ondulantes alternados de contração e relaxamento muscular (12, 17, 18).

A fêmea adulta mede entre 25 a 33 cm de comprimento e 0,48 a 1,51 mm de largura e o macho mede entre 12 a 18 cm de comprimento e 1,12 mm de largura (12, 19).

As fêmeas são vivíparas, libertando as microfilárias, já descapsuladas, na corrente sanguínea. Estas medem entre 290-330 μm de comprimento e 5-7 μm largura. A extremidade cefálica é cônica e a caudal é reta e pontiaguda. As microfilárias podem chegar a sobreviver até 3 anos na corrente sanguínea (12, 17, 20).



Figura 1: Microfilária de *Dirofilaria immitis*, no exame direto de sangue fresco de cão (x400)
(Foto da autoria de Ana Vieira)

3. Dirofilariose Canina

3.1. Ciclo De Vida

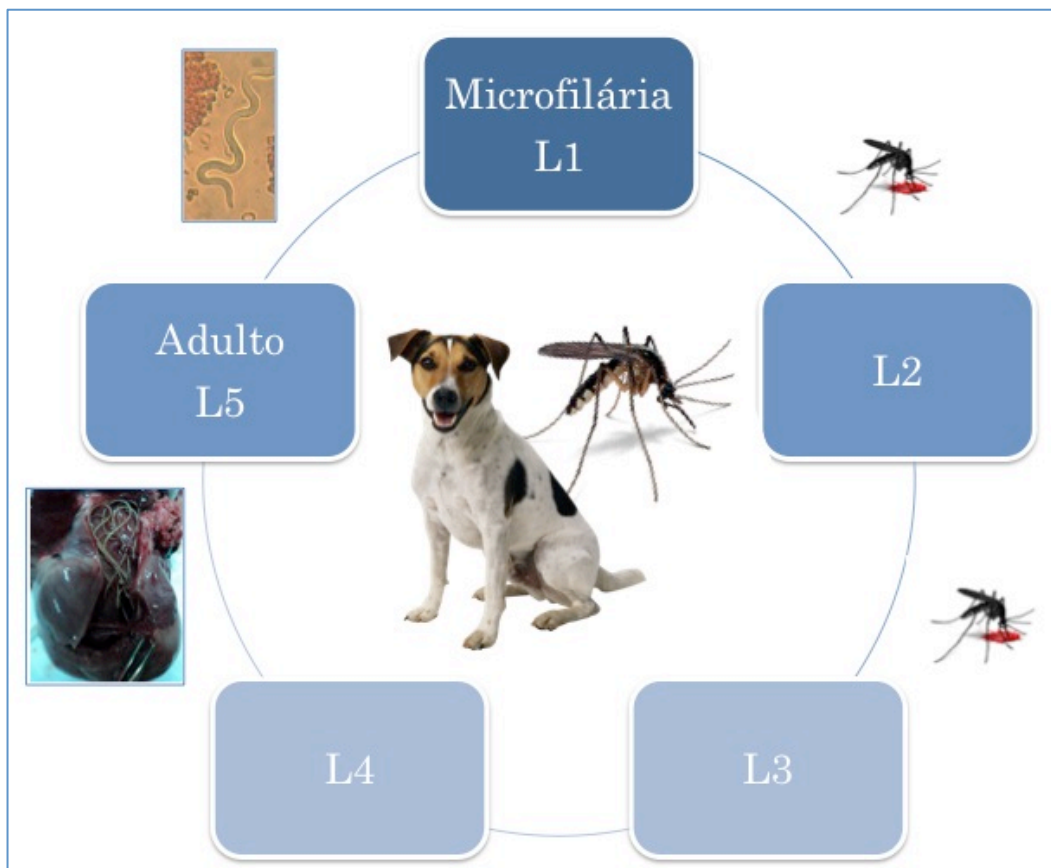


Figura 2: Ciclo de vida da *Dirofilaria immitis*. Legenda: L1 – primeiro estado larvar, L2 – segundo estado larvar, L3 – terceiro estado larvar, L4 – quarto estado larvar, L5 – quinto estado larvar.

A *Dirofilaria immitis* é um parasita com um ciclo de vida heteroxeno, constituído por cinco estados larvares (L1 a L5), ocorrendo parte do seu desenvolvimento num hospedeiro invertebrado - um mosquito (21). Em relação ao hospedeiro definitivo, o parasita foi descrito em mais de 30 espécies de mamíferos: canídeos domésticos e selvagens (ex: lobos, coiotes, raposas), felinos, mustelídeos (ex: furão), primatas, mamíferos marinhos, roedores, ungulados e humanos (4, 12, 21, 22). O ciclo de vida da *D. immitis* é relativamente longo (usualmente 7-9 meses), quando comparado com a maioria dos parasitas nemátodes (21) (figura 1).

O mosquito fêmea infeta-se, quando se alimenta do sangue de um hospedeiro com microfilárias (L1), desenvolvendo-se até à fase infetante (L3) no hospedeiro intermediário. O tempo necessário, para o desenvolvimento das microfilárias no hospedeiro intermediário, está dependente da temperatura. Em condições climáticas ideais (temperatura de 27°C e humidade relativa de 80%), o desenvolvimento do parasita demora cerca de 10 a 14 dias (23-26).

A larva infetante (L3) é transmitida a um novo hospedeiro, quando o mosquito vetor se volta a alimentar, podendo ser transmitidas aproximadamente 10 larvas por refeição (27). A larva infetante muda para o estadio L4 no tecido subcutâneo, adiposo ou muscular do hospedeiro, entre o 3º e 12º dia, após a infeção. A forma L4 migra através do tecido subcutâneo e músculo até à cavidade abdominal ou torácica (28).

A muda final de L4 para L5 ocorre entre o 50 e 68º dia pós-infeção. A larva juvenil (L5) migra do tecido muscular, da cavidade torácica ou abdominal e entra no sistema vascular, deslocando-se até ao coração e artérias pulmonares pelo efeito da pressão sanguínea, onde amadurece até um estado adulto (durante 99 a 152 dias). As primeiras formas de dirofilária que aparecem nas artérias pulmonares têm entre 2 a 3 cm de comprimento. Nesta altura sofrem um crescimento rápido, chegando as dirofilárias adultas macho a atingir 12-18 cm e as fêmeas 25-33 cm (12, 15, 20, 27).

Quando as formas juvenis da *Dirofilaria immitis* chegam ao coração e pulmões, a pressão venosa sanguínea desloca-as para as pequenas artérias pulmonares. A maioria aloja-se nos lobos pulmonares caudais, por estes apresentarem maior fluxo sanguíneo (26). Com o crescimento e o aumento de tamanho, migram para artérias de maior calibre, até atingirem a maturidade (21).

Em condições ideais, o ciclo da dirofilária demora entre 184 e 210 dias. Apenas os adultos maduros são capazes de se reproduzir e os hospedeiros só se tornam microfilarémicos 6 a 8 meses depois da infeção inicial (12, 15, 20, 27).

3.2. Epidemiologia

3.2.1. A *Dirofilaria immitis* no hospedeiro intermediário

A *Dirofilaria immitis* é transmitida por cerca de 70 espécies de mosquitos culicídeos que pertencem a diferentes géneros (como *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* e *Ochlerotatus*) e, por isso, são considerados vetores potenciais, tanto entre animais como humanos (29, 30).

O papel destes vetores na epidemiologia da dirofilariose pode ser influenciado por vários fatores, tais como: a sua abundância, a existência de hospedeiros suscetíveis, a periodicidade da circulação de microfilárias nos hospedeiros reservatórios, os ciclos circadianos e sazonais da atividade do inseto (que condicionam a frequência das refeições), a sazonalidade do desenvolvimento das larvas de dirofilariose no próprio vetor e as condições climáticas, que permitem o desenvolvimento do mosquito e da *Dirofilaria immitis* (23, 31).

A dinâmica dos reservatórios animais e humanos e as alterações climáticas têm facilitado a introdução de novos vetores competentes em regiões específicas, podendo ser uma das causas das alterações na distribuição do parasita (31).

Cancrini *et al.* (2003), descreveram o mosquito da espécie *Aedes albopictus* (mosquito asiático), introduzido na Europa recentemente, como vetor natural de *D. immitis*, em Itália. Considerando o comportamento alimentar antropofílico desta espécie, esta pode ser uma das causas responsáveis pela disseminação da dirofilariose nos humanos (5, 32).

Em relação à presença de larvas de *Dirofilaria immitis* nos mosquitos em Portugal, foi descrita a sua presença na espécie *Culex theileri*, na área da Comporta, Alcácer do Sal, em 1983 (33-35), no Funchal, Ilha da Madeira, em 2003 (36) e nas espécies *Culex theileri* e *Cx. pipiens molestus*, na Madeira (37). As larvas de *D. immitis* também foram isoladas noutras espécies de culicídeos, nomeadamente, o *Anopheles atroparvus* e *Culex pipiens* (34). Entre 2011 e 2013, um estudo demonstrou a presença de espécies de vetores de *Dirofilaria immitis*, em três distritos de Portugal (Coimbra, Santarém e Setúbal) com reconhecida endemicidade da dirofilariose (38).

Em relação ao carácter antropofílico dos mosquitos, foi realizado em Portugal um estudo em 1993, que determinou as preferências hemáticas de três vetores de dirofilariose reconhecidos no país: *Anopheles atroparvus*, *Culex pipiens* e *Culex theileri*, provenientes de várias localidades do sudeste do país. Este estudo mostrou que o *Culex theileri* e, em menor grau, o *Anopheles atroparvus*, são espécies potencialmente transmissoras da dirofilariose ao homem (34). Outro estudo, realizado entre 2007 e 2010, demonstrou que as espécies *Culex theileri* e *Ochlerotatus caspius* se alimentam tanto do hospedeiro *Canis familiaris* como do *Homo sapiens* (39).

3.2.2. Distribuição global de *Dirofilaria immitis* no hospedeiro definitivo

A epidemiologia das doenças transmitidas por vetores é afetada pelas inter-relações entre quatro fatores principais: agente patogénico, o hospedeiro (humano ou animal), o vetor e o ambiente. Além das alterações climáticas é igualmente plausível que o contexto socioeconómico, os efeitos demográficos e ecológicos desempenhem um papel importante. Alguns destes efeitos, facilitam a expansão de vetores e agentes patogénicos, como a alteração no habitat, alteração no armazenamento de água e dos hábitos de rega, poluição, desenvolvimento de resistência a inseticidas e fármacos (ex: *Anophles spp.* e DDT), globalização, aumento do comércio, turismo e viagens internacionais, imunodeficiência dos hospedeiros, guerra e agitação civil, falha de gestão global e governamental (25, 40, 41).

Em relação à dirofilariose, as alterações climáticas nas últimas duas décadas aumentaram o período anual de atividade do mosquito, diminuíram o tempo de desenvolvimento larvar, aumentaram a transmissão em várias regiões geográficas e tornaram novas regiões com condições para o desenvolvimento e disseminação da doença (25, 42). Para além da temperatura, também são importantes outros fatores ambientais, como a precipitação, humidade e a altitude dos locais (43).

Em Portugal, um estudo demonstrou que o local com melhores condições ambientais para a transmissão de dirofilariose foi a Madeira, seguido de Faro, Lisboa, Açores e, por fim, o Porto, sendo a época de transmissão mais propícia entre abril e novembro (44).

Atualmente, a infecção por dirofilária está disseminada do Canadá e dos estados do norte dos EUA (paralelo 43-48°N) até ao paralelo 34°S, na América do Sul (Argentina), podendo mesmo estender-se até ao paralelo 45°S (45). Na América, a

área endémica encontra-se entre os paralelos 24° e 34°N. Na Europa, as infeções estão confinadas entre os paralelos 43,5° e 50°N (21). No entanto, o parasita já foi diagnosticado no norte de França (área de Cheburg, acima da latitude de 50°N) (9). A área com maior prevalência de dirofilária canina na Europa é ao longo do Vale do Rio Pó, no norte de Itália, entre as latitudes 45 e 47°N, com valores de prevalência de 50% (9). Apesar dos esforços na prevenção e controlo da doença, a dirofilariose tem-se disseminado para áreas não endémicas, como os países do norte e centro da Europa (21, 22, 25, 46).

A prevalência nos países do mediterrâneo tem aumentando nos últimos 10 anos, tendo sido diagnosticados novos casos em zonas em que o risco de transmissão era mínimo (ex: região de Apulia e a Calabria em Itália). Para além disso, a *Dirofilaria immitis* tem sido detetada frequentemente noutros países da Europa e Ásia, incluindo a Rússia, a República Checa, a Sérvia e a República Eslováquia, zonas que eram consideradas não endémicas (3, 5).

Atualmente, a situação epidemiológica da dirofilariose tem sofrido aceleradas alterações, apesar dos esforços na prevenção e controlo da infeção nos cães. (46).

3.2.3. Distribuição de *Dirofilaria immitis* no hospedeiro definitivo em Portugal

No primeiro estudo realizado em Portugal, em 1943, por Cambournac & Simões, determinou-se a frequência de infestações dos cães por *Dirofilaria immitis* em Água de Moura (Palmela) e na Herdade do Pinheiro (Alcácer do Sal, Setúbal), através da pesquisa de microfilárias no sangue, sendo a prevalência encontrada de 63,8% e 52,6% , respetivamente (47).

Desde os anos 90, foram realizados estudos que permitiram determinar a prevalência de dirofilariose canina em diferentes regiões de Portugal. A prevalência do país é de 14,1%, no entanto, a distribuição não é uniforme (48-50). A prevalência nas regiões centro e sul do país (principalmente nas zonas litorais) é superior à da região norte. As regiões que apresentaram prevalências mais elevadas foram a ilha da Madeira (30%), Figueira da Foz (27,3%) e Setúbal (24,8%). No entanto, a sua presença também foi identificada em Lisboa, Coimbra, Aveiro, Santarém, Beja, Guarda, Faro e Castelo Branco Não foram, porém, registados casos em Bragança, Portalegre ou Évora (25, 51-56)

3.3. Patogenia

A dirofilariose canina caracteriza-se por lesões inflamatórias agudas e crónicas nos pulmões e outros órgãos, devido tanto à presença de parasitas adultos como à presença de microfilárias na circulação sanguínea. O agente causador da patologia, *D. immitis* é, por sua vez, portador de uma bactéria gram negativa e intracelular, a *Wolbachia pipientis*. Este microrganismo tem um papel essencial na biologia e na reprodução das dirofilárias e um papel importante, no desenrolar da patogenia e resposta imunitária do hospedeiro à infeção (57, 58).

A imunopatologia da dirofilariose é extremamente complexa e as manifestações clínicas são fortemente dependentes do tipo de resposta imunitária que é estimulada pelo parasita. O facto de o parasita sobreviver vários anos no hospedeiro imunocompetente deve-se à sua capacidade de evitar/modular a resposta imunitária (57, 58).

As lesões primárias desta doença ocorrem nas artérias pulmonares e parênquima pulmonar, e em estados avançados pode afetar o coração (57, 59-61). O grau de lesão depende do número de parasitas presentes, da duração da infeção e da reação do

hospedeiro ao parasita (15). As lesões ocorrem desde o momento em que o parasita adulto imaturo (L5) chega às artérias pulmonares e consistem em lesão vascular, doença pulmonar com infiltrados eosinofílicos, eosinofilia e sinais de doença respiratória. Os parasitas adultos vivem nas artérias pulmonares caudais e causam lesões que levam à hipertensão pulmonar que, se não for tratada, progride inevitavelmente para insuficiência cardíaca direita (57, 59, 60). Em casos de infecções massivas por dirofilárias, estas também podem ser encontradas no átrio direito, a nível da válvula tricúspide, provocando obstrução no fluxo sanguíneo (57, 60). Este evento causa hemólise intravascular e hemaglobinúria, também designado de Síndrome de Veia Cava (57, 59, 60, 62) (figura 3).

As microfilárias parecem ter um papel menor na patogenia da doença, mas podem ser responsáveis por pneumonites eosinofílicas e glomerulonefrites (57, 59, 60).

Também podem ocorrer migrações aberrantes do parasita para localizações ectópicas, como a câmara anterior do olho, cérebro, medula espinal, fígado e pele (20, 57, 59, 60).

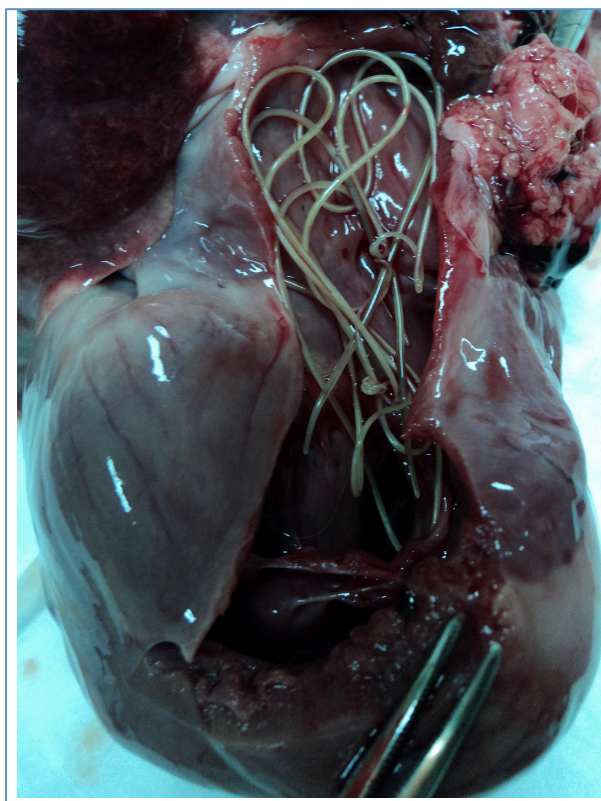


Figura 3: Artéria pulmonar e ventrículo direito de um cão com infecção grave por adultos de *Dirofilaria immitis* (Foto da autoria de Ana Vieira).

3.4. Sinais Clínicos

Habitualmente, pensa-se que a dirofilariose é uma patologia cardíaca, no entanto, os parasitas adultos localizam-se, maioritariamente, nas artérias pulmonares, provocando lesão vascular, como endoarterite, inflamação perivascular e patologia respiratória. A dirofilariose canina apenas afeta as câmaras cardíacas direitas, nos últimos estados da doença e em infecções em que a carga parasitária é elevada (20, 57, 63).

A apresentação clínica de dirofilária é usualmente crónica. Muitos dos cães infetados são assintomáticos durante meses ou anos, dependendo do número de

parasitas presentes, da reatividade individual e do exercício a que o hospedeiro é sujeito (43, 64-66). Os sinais da doença desenvolvem-se gradualmente e podem iniciar-se com uma tosse crónica, seguida de dispneia moderada a severa, fraqueza, perda de peso, intolerância ao exercício, síncope após exercício ou excitação. Nesta altura, podem ser audíveis crepitações nos lobos pulmonares caudais e uma divisão do segundo som cardíaco (15, 57, 67).

Se o quadro clínico progredir para uma insuficiência cardíaca direita, podem estar presente sinais como ascite, edema das extremidades, anorexia, perda de peso, desidratação, engurgitação venosa (jugular, cutânea, episcleral ou retinal) e congestão venosa visceral. A nível hepático, a congestão venosa leva a hepatomegalia que pode ser acompanhada de icterícia, elevação das enzimas hepáticas e alteração da coagulação. Também costuma estar presente congestão esplénica, com esplenomegalia (67-69). A efusão pleural é menos comum. Nesta fase, na auscultação, pode-se ouvir um sopro protossistólico cardíaco no lado direito do tórax, devido à presença de uma insuficiência da válvula tricúspide e presença de arritmia, devido à presença de fibrilhação atrial (15, 57, 67).

Ocasionalmente, podem observar-se episódios agudos por tromboembolismo pulmonar espontâneo, devido à morte natural dos parasitas, provocando um quadro clínico agudo e severo de dispneia e hemoptise (15, 57, 67).

Alguns pacientes desenvolvem o síndrome da veia cava que é caracterizado por alterações hemodinâmicas, que levam à dispneia, ortopneia, insuficiência respiratória severa, hemólise intravascular aguda e hemoglobinúria, coagulação intravascular disseminada e choque cardiogénico. Este síndrome é fatal, se não forem removidos os parasitas cirurgicamente (57, 69).

3.5. Diagnóstico

A infeção por dirofilária pode ser diagnosticada por análises sanguíneas que detetam o parasita, mas devem-se realizar exames analíticos e imagiológicos, para determinar a severidade da doença e a opção terapêutica apropriada (21).

3.5.1. Diagnóstico laboratorial

A infeção por dirofilariose canina pode ser diagnosticada através de exames sanguíneos que detetam microfilárias circulantes, ou o antígeno do parasita adulto (21).

As microfilárias podem ser observadas num esfregaço sanguíneo (idealmente após realização de uma técnica de concentração e coloração) e devem ser identificadas e diferenciadas pela sua morfologia (*D. immitis*, *D. repens*), evitando, assim, falsos positivos (figura 4). Outros métodos que permitem a identificação e diferenciação de microfilárias são a técnica de coloração histoquímica e métodos moleculares (57).

Foram desenvolvidos testes de ELISA (“Enzyme linked immunosorbent assay”) que detetam a presença de antígeno circulante no soro, plasma, ou sangue total, proveniente do sistema reprodutor dos parasitas fêmeas adultas. Estes testes são superiores aos testes de pesquisa de microfilárias, tanto no despiste como no diagnóstico, devido à sua elevada sensibilidade e especificidade (70).

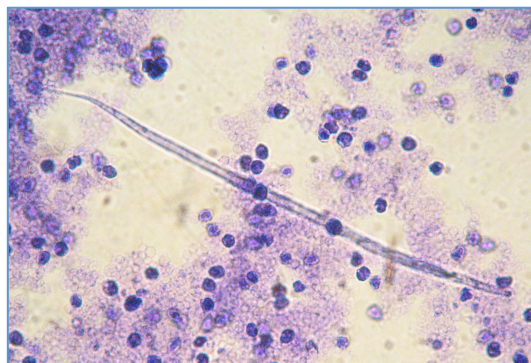


Figura 4: Microfilária de *Dirofilaria immitis*, na técnica de Knott modificado (x400)
(Foto da autoria de Ana Vieira)

3.5.2. Diagnóstico imagiológico

A radiografia é um exame objetivo e útil, para avaliar a severidade da doença e avaliar as alterações cardiopulmonares e a carga parasitária (20, 71-73). Sinais típicos da doença de dirofilária são a dilatação e tortuosidade dos ramos periféricos intralobares e interlobares das artérias pulmonares, particularmente nos lobos caudais (72, 73). Em casos de pneumonite, pode estar presente um padrão pulmonar misto intersticial e alveolar, que tipicamente é mais severo nos lobos pulmonares caudais (15, 74). Em caso de tromboembolismo pulmonar, pode estar presente um infiltrado intersticial e alveolar coalescente, ocorrendo principalmente nos lobos pulmonares caudais, refletindo um aumento da permeabilidade vascular pulmonar e inflamação. Em caso de uma embolização massiva, ou enfarte pulmonar, pode estar presente uma consolidação pulmonar (15). Em cães com insuficiência cardíaca direita, podem ser visualizadas alterações adicionais, como cardiomegalia direita, dilatação da veia cava, aumento da silhueta do fígado e do baço, efusão pleural e ascite (15, 74).

A ecocardiografia permite a visualização direta das câmaras cardíacas e vasos associados, o que permite a observação do parasita nas câmaras cardíacas direita, veia cava caudal, artéria pulmonar e o trato proximal de ambas as artérias pulmonares caudais. As dirofilárias adultas são visualizadas como uma linha dupla linear, ecogénica, curta, flutuando nas câmaras cardíacas ou no lúmen dos vasos (57, 63, 72, 74) (figura 5). Não é um método eficiente para fazer o diagnóstico, porque nos animais, com baixa carga parasitária, os parasitas encontram-se nos ramos das artérias pulmonares periféricas, sem estarem acessíveis à ecografia. Em cães com hemoglobinúria, é possível visualizar a presença de dirofilárias na válvula tricúspide, sendo conclusivo para confirmar o síndrome da veia cava (72) (figura 6).

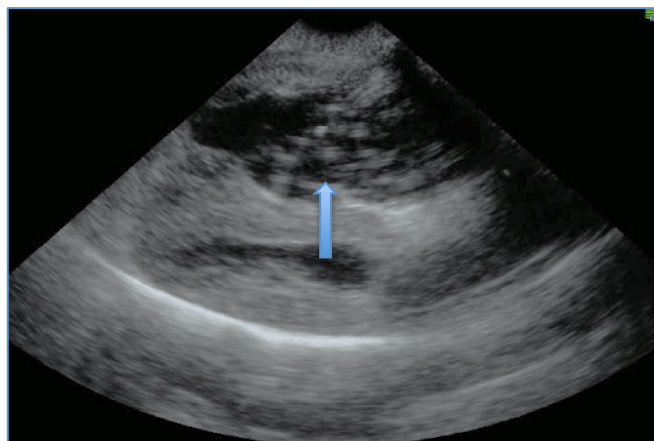


Figura 5: Ecocardiografia de um cão infetado com *Dirofilaria immitis*. Os parasitas aparecem como estruturas com conformação de dupla linha paralela, na aurícula direita (setas) (Foto da autoria de Ana Vieira)

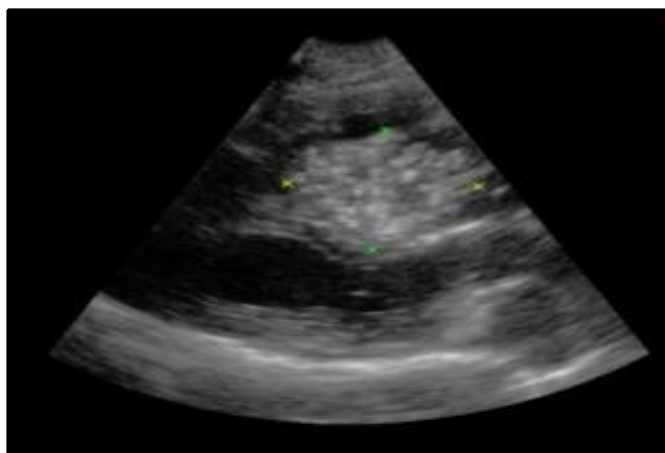


Figura 6: Ecocardiografia em corte parasternal direito de um cão gravemente infectado com *Dirofilaria immitis*. (síndrome da veia cava - icterícia, hemoglobinúria e hemoglobinemia). Massa composta por aglomerado de parasitas a nível da válvula tricúspide (Foto da autoria de Ana Vieira)

3.6. Tratamento

O objetivo do tratamento é melhorar a condição clínica do animal através da eliminação dos parasitas adultos e microfilárias, com o mínimo de complicações durante e depois do tratamento (72). O tratamento da dirofilariose é difícil, pois não é um tratamento simples, nem 100% seguro, devido ao risco de efeitos secundários e pela destruição massiva de parasitas. (21, 75). O tratamento de pacientes assintomáticos, ou com sinais clínicos pouco exuberantes, tem uma taxa elevada de sucesso. No entanto, os animais com doença moderada a severa apresentam maior risco no tratamento (72).

Tendo em conta os últimos avanços na evidência clínica, está recomendada uma aproximação multimodal no tratamento de dirofilariose com a utilização de produtos adulticida, microfilaricida e eliminação da *Wolbachia spp.* (75).

O único medicamento adulticida aprovado é o dihidrocloridrato de melasormina, com uma eficácia entre 94,2-95,7% (57, 75, 76). Após o tratamento adulticida, deve-se efetuar o tratamento microfilaricida com a administração de lactonas macrocíclicas que causam uma descida rápida no número de microfilárias (75). Para a eliminação da *Wolbachia spp* e redução da resposta inflamatória está aconselhado o tratamento com doxiciclina durante 1 mês, previamente ao tratamento adulticida.

3.7 Rastreio e Profilaxia

A dirofilariose canina é uma doença que pode ser totalmente prevenida, sendo, por isso, uma prioridade em cães que vivem em zonas de risco elevado.

A evidência sugere que, reduzindo a população reservatária, através do aumento do número de cães que recebem profilaxia, diminui proporcionalmente a prevalência da infeção em cães não protegidos (75-77). Por isso, aconselha-se o tratamento mensal, durante todo o ano, em zonas endémicas (72).

Antes de iniciar um regime profilático, todos os cães com mais de 6 meses e que possam ter sido infetados, devem ser testados com um teste de pesquisa de antígeno e um teste de pesquisa de microfilárias circulantes (72, 77). É estrategicamente importante determinar o estado de parasitismo por dirofilária, antes de iniciar a prevenção, para evitar o atraso no diagnóstico de infeções sub-clínicas e confusão potencial acerca da eficácia da profilaxia (75-77).

Atualmente, utilizam-se as avermectinas do grupo das lactonas macrocíclicas (ivermectina, selamectina, moxidectina, milbemicina), administradas por via oral,

tópica ou parental, que demonstraram uma eficácia excepcional (69, 72, 78). O efeito filaricida da formulação oral ou tópica é conseguida através de uma administração pulsátil que elimina as larvas pré-cardíacas, permitindo que a eficácia seja, virtualmente, 100%, quando administradas nas doses e intervalos corretos e mantendo um elevado nível de segurança (75-77). Estes fármacos não previnem a inoculação da larva pelo vetor, mas impedem o seu desenvolvimento até às formas adultas (69).

4. Dirofilariose Pulmonar Humana

4.1. Ciclo de Vida

Em relação à *D. immitis*, os humanos são considerados hospedeiros acidentais, havendo um risco de infeção mais elevado em áreas endémicas para dirofilariose canina. O homem infeta-se através da picada de um mosquito culicídeo infetado com larvas L3, ou seja, da mesma forma que os reservatórios animais. No entanto, a maioria das larvas do estágio L3 e L4 não sobrevive, pois são eliminadas pelo sistema imunitário (2, 46).

Ocasionalmente, uma ou mais larvas podem prosseguir a sua migração pelo tecido conjuntivo até à circulação venosa e coração direito, podendo chegar às artérias pulmonares, onde se desenvolvem lesões típicas da dirofilariose pulmonar humana. O nemátode induz vasculite, o que leva à sua morte pelo sistema imunitário (3, 79). O parasita morto é incorporado num granuloma, que, em termos imagiológicos, é reconhecido como uma lesão “tipo moeda” (7, 57).

O parasita não completa o seu ciclo de vida no hospedeiro humano, tendo sido descrito apenas um caso de presença de microfíliarias num humano (3, 46), pelo que o homem não é um hospedeiro relevante do ponto de vista de transmissão (7).

Os quatro principais fatores que influenciam a frequência e distribuição da dirofilariose pulmonar humana são a dimensão da população canina, a prevalência da dirofilariose canina, a densidade da população de mosquitos vetores e a exposição à picada de mosquitos, com hábitos alimentares antropofílicos (80, 81).

4.2. Epidemiologia da dirofilariose pulmonar humana

4.2.1. Revisão retrospectiva

Os estudos epidemiológicos realizados em humanos têm duas aproximações: revisões retrospectivas de casos publicados e análises seroepidemiológicas (69).

A distribuição geográfica da dirofilariose humana é difícil de definir, porque uma revisão retrospectiva de casos clínicos publicados providencia informação adequada de áreas onde há um interesse acerca da zoonose, ou onde há melhores ferramentas para a sua deteção, em vez de uma distribuição real da infeção (7, 11, 46, 52). Mais interessante que o número exato de casos descritos, é a evolução da frequência com que aparecem novos casos, que tem aumentado em paralelo com o aumento do interesse nestes parasitas. Por exemplo, desde 1965 até 1989, foram diagnosticados cerca de 165 casos de dirofilariose pulmonar, a maioria nos EUA, Japão e Austrália. Nos 13 anos seguintes (1990-2003), foram descritos 130 casos em 15 países (46).

Em todo o mundo, foram publicados aproximadamente 1780 casos de dirofilariose humana, sendo 370 de dirofilariose pulmonar e 1410 de dirofilariose subcutânea/ocular (7, 10, 69). A maior parte dos casos humanos de *D. immitis* foi descrita na América, Austrália e Japão (anexo 1). Na Europa, Ásia (exceto Japão) e África, os casos de *D. repens* são mais frequentes do que os casos de *D. immitis* (7, 82). Esta diferença pode ser devida a dois factores: os médicos dos EUA e Japão

estarem mais sensibilizados para a presença de dirofilariose pulmonar humana e/ou a dirofilariose subcutânea ser mais perceptível clinicamente que a dirofilariose pulmonar (82).

Nos EUA, contabilizam-se 116 casos de dirofilariose pulmonar (por *D. immitis*), distribuídos, na sua maioria, pelos Estados da Costa Atlântica, Golfo do México e vale do Mississipi, onde estão descritas prevalências elevadas na população canina (7).

Na América do Sul, foram descritos cerca de 50 casos, a maior parte proveniente do sudoeste do Brasil (nas zonas do Rio de Janeiro, São Paulo e Florianópolis) e, de forma esporádica, da Costa Rica, Argentina, Venezuela e Colômbia (7). Vezzani *et al.*, (2011) (83), referem que o baixo número de casos de dirofilariose humana descritos na Argentina (5 casos clínicos) pode dever-se à natureza assintomática da infeção e à dificuldade no seu diagnóstico.

No Japão, onde a maioria dos casos se deve a *D. immitis*, foram descritos 24 casos de dirofilariose pulmonar humana entre 1998 e 2004 (57) e 145 casos até 2012 (7). Lee *et al.* (2000) (84), descreveram o primeiro caso de dirofilariose pulmonar humana na Coreia. A dirofilariose pulmonar humana também foi descrita em 20 pacientes na Austrália (7).

Na Europa e Ásia, onde coexistem a *D. immitis* e a *D. repens* na população canina, predominam os casos de dirofilariose subcutânea/ocular por *D. repens* (1370 casos), sobre os casos de *D. immitis* (30 casos), mesmo em áreas onde a sua prevalência na população canina é elevada (quadro 1) (7). No entanto, foram descritos 33 casos clínicos na União Europeia e três casos na Rússia (7). Apesar da maioria dos casos descritos ser de países da bacia mediterrânea, onde a dirofilariose canina é endêmica, também têm sido descritos casos em países livres de casos autóctones, como a Alemanha (7).

País	Nº Casos em Humanos					
	Dirofilariose Pulmonar			Dirofilariose Subcutânea		
	Até 1999	2000-2011	Total	Até 1999	2000-2011	Total
Espanha	5	3	8	6	2	8
França	2	2	4	24	63	87
Itália	3	10	13	135	188	323
Grécia		3	3	10	25	35
Hungria			0		31	31
Croácia			0		10	10
Sérvia			0	3	19	22
Alemanha	2	1	3	6	3	9
Turquia			0	1	21	22
Rússia		2	2	62	561	622
Austria			0	0	>16	>16
Ucrânia			0	23	1	24
Outros						179

Quadro 1: Dados epidemiológicos de dirofilariose humana na Europa.

Adaptado de Simón *et al.*, (2012)(69).

Num estudo realizado na zona Oeste de Espanha, durante 2 anos, foram descritos oito casos de dirofilariose pulmonar numa população de 50 mil pessoas, sendo a seroprevalência em humanos de 21%. A taxa de incidência de 4 novos casos por 100 mil habitantes por ano sugere que a parasitose é subdiagnosticada, porque os clínicos não consideram a dirofilariose como um diagnóstico diferencial de nódulo pulmonar ou granulomas calcificados pulmonares (5).

O painel intergovernamental para as alterações climáticas antecipou que, devido ao aquecimento global, os verões quentes na Europa vão ser propícios para a transmissão de dirofilariose, tornando-se esta mais frequente e levando à sua disseminação para zonas livres da doença. Tendo em conta que a dirofilariose pulmonar humana está

relacionada com a prevalência da dirofilariose canina, a presença de vetores e a atividade humana que permita a exposição à doença, é provável que se continue a observar um aumento do número de casos em humanos (80).

4.2.2. Estudos serológicos: a outra face da infecção

A revisão retrospectiva dos casos publicados apenas oferece uma visão parcial da dirofilariose humana, a “Ponta do Icebergue”, uma vez que nas áreas endêmicas, onde existem vetores com hábitos zooantropofílicos, as infecções humanas devem ser muito mais frequentes que os casos descritos na literatura. Os sintomas dos pacientes com dirofilariose, especialmente na sua variante pulmonar, passam muitas vezes despercebidos, ou são atribuídos a outras causas. A deteção de anticorpos específicos no sangue permite estimar o risco real da infecção numa determinada área. Os estudos seroepidemiológicos realizados em residentes de diferentes áreas endêmicas mostram elevadas prevalências de infecção, em semelhança ao que ocorre em cães (46, 69).

Estudos serológicos realizados em Espanha, na zona de Salamanca, demonstraram que 10% da população humana tinha IgG circulantes anti-*D. immitis*, sendo que, há uma década, a prevalência era de 5,8% (prevalência canina de 33%) (85). Este aumento da seroprevalência na área pode ser explicado pelo desenvolvimento urbano da zona, em paralelo com o aumento da população canina, e falha na prevenção da parasitose (46).

Também foi descrita uma prevalência de IgG circulantes de 21% na população humana da zona oeste da Espanha, e 10 a 30% em diferentes regiões isoclimáticas da ilha da Gran Canária (7, 69, 86, 87). Em Espanha, na região de Rojia, verificou-se uma seroprevalência de *D. immitis* de 12% nos cães e 11,6% em humanos (41, 88).

Em Itália, foi descrita uma seroprevalência de 32,3% de *D. immitis* em humanos em Pavia (norte de Itália) e 13,5% na Sicília (89); na Sérvia, registou-se uma seroprevalência em humanos de 8,1% (46, 90).

No Havai (EUA), registam-se seroprevalências de 13,8% e 16,3% para IgG e IgE em crianças; em Maryland, 27% para IgG e 5% para IgE; no Illinois, 5,2% para IgG em humanos (10, 69).

Num estudo realizado na região sudeste de Porto Rico, área de elevada prevalência de dirofilariose canina, registou uma seroprevalência de 2,66% em humanos (91).

Na região de Queensland, Austrália, foi descrita uma seroprevalência de 18,2% em humanos, verificando-se na comunidade aborígenea uma prevalência superior à da comunidade caucasiana. No entanto, as lesões radiológicas foram apenas descritas na comunidade caucasiana (92).

A serologia também permitiu identificar a dirofilariose humana em áreas e situações nas quais eram impossíveis outras formas de diagnóstico, devido ao isolamento e carência de meios, (ex: comunidade de índios, Tikuna Amazonas, Colômbia) (7, 46). Estudos subsequentes detetaram a infecção entre humanos que viviam em diferentes áreas geográficas da Colômbia (46).

Estes dados sugerem que o risco de infecção humana com *D. immitis* é muito mais elevado do que mostram os estudos retrospectivos de casos (5, 7, 46).

4.2.3 Dirofilariose pulmonar humana em Portugal

Em Portugal, apenas estava descrita a presença de *D. immitis*, não sendo conhecidos casos autóctones de *D. repens* em nenhum hospedeiro definitivo (ex: cão, gato e humanos) (93). No entanto, Baptista-Fernandes *et al.*, (2015) (94), descreveram um caso importado da Índia de *D. repens*: um homem de 23 anos, que apresentava um nódulo no epicanto do olho esquerdo e onde, após extração, foi confirmada a presença

do parasita por estudos morfológicos e moleculares. Maia *et al.*, (2015) descreveram o primeiro caso de *Dirofilaria repens* num cão da região do Algarve (95).

Em relação à *D. immitis* em Portugal, apenas está descrito um caso de dirofilariose ocular num humano (96) e a sua presença em dois casos de nódulos pulmonares, detetados após a sua remoção cirúrgica e exame histopatológico (49).

Com exceção destas duas descrições, e em contraste com outros países europeus, não têm sido divulgados casos de infeção humana por *Dirofilaria immitis*.

Belo *et al.* (2014) realizaram um questionário online aos médicos de Portugal, para aferir os conhecimentos, atitudes e práticas, face à dirofilariose. Dos resultados obtidos desse questionário, realça-se a referência a 10 casos nos últimos cinco anos, entre os quais sete eram cutâneos (quatro diagnosticados por histologia e três por serologia), dois pulmonares (um deles diagnosticado por serologia) e um oftálmico (diagnosticado por serologia). Observaram, ainda, um desconhecimento geral dos clínicos sobre a parasitose, reforçando a necessidade da sua maior divulgação à comunidade médica, e, portanto, a necessidade de mais estudos para conhecer a epidemiologia atual da dirofilariose pulmonar humana no país (93).

4.3. Patogenia

A dirofilariose pulmonar humana caracteriza-se pelo aparecimento de nódulos pulmonares, devido à presença dos parasitas adultos imaturos, que alcançam os ramos da artéria pulmonar de pequeno e médio calibre, onde embolizam, causando uma reação inflamatória local (vasculite) e embolismo (97).

A histologia macroscópica mostra a existência de um nódulo bem circunscrito, com uma área com coagulação central envolvendo o parasita (2, 11) e circundada por uma parede fibrótica de 1 a 3 mm de espessura e de cor amarela a esbranquiçada (11). A histologia microscópica mostra um granuloma bem circunscrito, que contém o parasita em diferentes estados de decomposição no lúmen da artéria pulmonar afetada. O granuloma apresenta uma área central, com necrose coagulativa, circundada de paredes com tecido fibroso, contendo células epiteloídes, células gigantes de Langhans, linfócitos, células plasmáticas e fibroblastos (11, 97). As lesões microvasculares observadas incluem hiperplasia íntima vilosa e proliferação fibroblástica, semelhante às descritas nos cães, indicando que o parasita esteve presente e vivo o tempo suficiente para estimular uma resposta de vasculite focal. O pulmão adjacente pode mostrar uma reação de pneumonia intersticial descamativa com bronquiolite folicular e zonas de pneumonia organizada (79).

Apesar de ser mais frequente o aparecimento de apenas uma lesão nodular pulmonar, também estão descritas múltiplas lesões, chegando a ocorrer 5 lesões no mesmo indivíduo (11). Há evidência que os nódulos se encontram mais frequentemente em localizações periféricas do pulmão direito, sem diferenças na distribuição lobar e usualmente em regiões subpleurais (11). Em estudos prévios, o tempo para a formação do nódulo foi entre 2 a 8 meses. Até à data, a duração mais longa de um nódulo conhecida foi de 13 anos, durante o qual sofreu calcificação, mas, após dois anos de acompanhamento, não mostrou alterações radiológicas (11).

A *D. immitis* também se pode encontrar em localizações extrapulmonares, estando descritas as seguintes: cérebro, intraocular, hepática, tecido adiposo do mesentério e artéria testicular. Estes casos são raros e, com exceção da dirofilariose encontrada na câmara anterior do olho, os parasitas continuam associados aos vasos sanguíneos. Mais raramente, foram encontrados parasitas em decomposição, no espaço retroperitoneal e, em algumas ocasiões, o parasita foi encontrado no coração e grandes vasos, no exame pós-mortem (3) (anexo 2).

A bactéria simbiótica *Wolbachia spp.*, também foi identificada nas infecções humanas, tendo um papel importante na resposta imunológica do hospedeiro. A evidência da participação dos antígenos de *Wolbachia spp.* (WSP), no estímulo da resposta do sistema imunitário humano, foi obtida pela primeira vez num estudo realizado numa área endémica de Espanha, no qual foram detetados anticorpos específicos IgG contra a WSP em todos os indivíduos diagnosticados com dirofilariose pulmonar (46).

4.4. Sintomatologia

A dirofilariose pulmonar humana surge com maior frequência em adultos do sexo masculino, entre os 10 e os 79 anos (idade média de 53 anos) e que residem em áreas endémicas. O rácio homem:mulher descrito foi de 2:1 (2, 11).

As pessoas infetadas por *Dirofilaria immitis* são assintomáticas em 54-80% dos casos descritos. Quando presentes, os sintomas descritos são do foro respiratório, como tosse, dor torácica pleurítica ou não-pleurítica, expectoração purulenta ou sanguinolenta, hemoptise e dispneia. Também poderão estar presentes sintomas gerais, como febre, astenia, mialgia (2, 3, 7). Um quadro clínico de perda de consciência após dor torácica foi descrito num doente, e noutro um quadro de gonalgia bilateral com edema e febre (11). O exame físico é quase sempre normal, podendo, no entanto, encontrar-se como sinais mais frequentes estertores, crepitações e sibilâncias. Pode surgir ainda efusão pleural de pequena magnitude (7, 11).

4.5. Diagnóstico

O maior desafio no diagnóstico de dirofilariose é a presença de nódulos pulmonares, que não originam sintomas e que, na maior parte dos casos, são identificados acidentalmente quando se realiza um exame radiológico do tórax. A descoberta de uma lesão “tipo moeda” requer um trabalho de diagnóstico intenso para excluir outros diferenciais, pois existem pelo menos 20 causas conhecidas deste tipo de lesão. Estas podem ser classificadas em 5 categorias: tumores malignos, tumores metastáticos, tumores benignos, quistos e granulomas inflamatórios (ex: tuberculose) (79, 98)

Para excluir diagnósticos diferenciais, os doentes são frequentemente submetidos a radiografia torácica, broncoscopia, exame bacteriológico da expectoração, cultura de material obtido por lavagem transtraqueal, tomografia axial computadorizada e/ou ressonância magnética (99), sendo muitas vezes necessária a recolha de amostras biológicas por punção aspirativa de agulha fina (PAAF), toracoscopia ou toracotomia e ressecção cirúrgica do tecido pulmonar afetado (25, 99).

Geralmente as características radiográficas sugerem benignidade: nódulos com bordos bem definidos, forma esférica ou ovóide e densidade homogénea, com dimensões inferior a 30 mm. Também estão descritas lesões residuais calcificadas, o que é consistente com lesões angiocêntricas típicas da dirofilariose. Com alguma frequência, as lesões são transitórias, podendo desaparecer com o tempo. Estas resultam da morte do parasita no leito vascular pulmonar e de uma resposta de pneumonite, seguida da formação de um granuloma. A fase de pneumonite não é reconhecida pelo radiologista, porque o desenvolvimento do nódulo é obscurecido pela inflamação pulmonar. A tomografia computadorizada torácica é realizada para avaliação da lesão detetada na radiografia pulmonar (25).

Durante o processo de diagnóstico devem ser resolvidas duas questões fundamentais: a obtenção da amostra adequada e uma correta identificação do agente

causal. Devido à ausência de microfilárias no sangue, o diagnóstico é realizado habitualmente por uma biópsia, que permite determinar a presença do parasita nos nódulos pulmonares. No entanto, este procedimento é invasivo e tem potencial iatrogénico (7, 100). Alternativamente, recorre-se à biópsia por toracoscopia, um procedimento que acarreta menor risco de morbilidade ou mortalidade quando comparada com a toracotomia. A PAAF é outro procedimento descrito, no entanto, pode apresentar mais resultados falsos negativos (79). Após a obtenção do material biológico, é realizada uma análise histológica para identificação do parasita – o que nem sempre é possível, devido a alguns fatores como o grau de destruição do parasita e semelhança das cutículas das diferentes espécies (sendo, por isso, um critério pouco fiável) (7).

Como alternativa e complemento ao diagnóstico, pode-se realizar a técnica de reação em cadeia de polimerase para identificação do parasita, um teste com elevada sensibilidade e especificidade e com a vantagem adicional de requerer uma quantidade mínima de ADN na amostra (7). A coloração imuno-histoquímica é outra opção, podendo revelar a presença de *Wolbachia spp.* no nódulo, indicando a prévia presença de *Dirofilaria spp.* No entanto, estas técnicas apresentam a desvantagem de não evitarem a intervenção cirúrgica para obtenção do material biológico (7).

A presença do parasita estimula uma resposta forte do sistema imunitário, levando à produção de anticorpos. O desenvolvimento dos testes indiretos, para aplicar às pessoas que habitem em zonas de elevadas prevalência, permite uma melhor avaliação da infeção e do seu impacto na saúde humana (99). Não existem testes serológicos comerciais disponíveis para este efeito, mas a nível experimental têm-se utilizado diferentes complexos de antígenos para detetar os anticorpos e realizar o diagnóstico de dirofilariose humana. A técnica de ELISA utiliza extratos de antígenos somáticos excretores/secretores de parasitas adultos. No entanto, os antígenos complexos produzem reações cruzadas com outras espécies de parasitas helmintes do homem, principalmente o *Toxocara canis*, *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis*, *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*, pois todos eles têm uma via migratória que estimula a resposta do sistema imunitário (99). O problema da especificidade pode ser resolvido utilizando polipéptidos presentes nos complexos antigénicos, cuja especificidade para a *D. immitis* foi demonstrada previamente. A aplicação de polipéptidos isolados (ex: antígeno 22 kDa dos adultos de *D. immitis* - Di229), na técnica de ELISA, demonstrou ter uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 90%, com valores preditivos positivo e negativo de 75% a 100%, respetivamente (7, 101).

Se a comunidade médica tiver testes serológicos à disposição, a determinação da presença e extensão da dirofilariose humana poderá ser avaliada de forma mais precisa e o custo do tratamento destas lesões será menor. No entanto, a positividade de um teste serológico deve ser complementada com outros dados, como os antecedentes pessoais, a zona de residência e a radiologia, antes de aplicar qualquer medida invasiva (7).

4.6. Tratamento

A dirofilariose pulmonar humana não tem tratamento farmacológico, sendo a remoção cirúrgica curativa (3, 7). Na maior parte dos casos a toracotomia é realizada para obtenção de um diagnóstico definitivo, porém acarreta riscos cirúrgicos (mortalidade varia entre 0,3 a 7,3%) (79).

As acções que contribuem para diminuir a incidência nos hospedeiros reservatórios e vetores terão repercussões benéficas na população humana; e o conhecimento da

existência da dirofilariose por parte dos médicos determinará a sua inclusão como diagnóstico diferencial, em caso de nódulo pulmonar, podendo evitar a iatrogenia da intervenção médica (7).

E. CONCLUSÃO

A maioria das doenças causadas por vetores são consideradas emergentes e a sua prevalência tem aumentado nas últimas décadas, incluindo a dirofilariose humana (2). O aumento dos casos humanos publicados nos últimos anos contradiz a ideia de que a dirofilariose humana é acidental e pouco frequente. A expansão geográfica e o aumento da prevalência nas populações caninas é, provavelmente, o fator mais importante, com influência no incremento de casos humanos (5, 46). No entanto, é necessário analisar outros dados como, por exemplo, o facto de 80% dos casos humanos publicados terem sido identificados em países onde existem grupos ativos de investigação de dirofilariose. Noutros países, com prevalências igualmente elevadas, porém, não existem descrições, ou, quando existem, são esporádicas, sugerindo que provavelmente a dirofilariose humana é subdiagnosticada (7, 10, 46).

O significado na saúde pública da *D. immitis* não está associado à doença clínica nos humanos, propriamente dito, mas aos diagnósticos diferenciais da lesão nodular radiográfica em “forma de moeda” (79).

A localização das pulmonares *D. immitis* no hospedeiro humano faz com que o diagnóstico e o tratamento sejam um desafio. Atualmente, é necessário o desenvolvimento e validação de testes não invasivos para o diagnóstico da dirofilariose pulmonar humana que permitam, por uma lado, o diagnóstico da infeção, evitando assim procedimentos invasivos e reduzindo a morbilidade e os custos e, por outro lado, medir o impacto real da doença na população humana (46).

Como a medida preventiva mais importante é diminuir a presença da parasitose nos vetores e hospedeiros reservatórios, de modo a travar a sua transmissão ao ser humano, é importante identificar áreas em que o risco de transmissão seja elevado (áreas endémicas de dirofilariose canina) de modo a implementar medidas profiláticas nos animais e atividades de educação em saúde que englobem todos os profissionais de saúde animal e humana, assim como implementar estudos que permitam conhecer melhor a epidemiologia da infeção no ser humano (4, 102).

O estudo da dirofilariose poderá também servir de modelo para o estudo da disseminação de outras doenças transmitidas por vetores (mosquitos), podendo ajudar na formulação de protocolos e esquemas de controlo, preparando as autoridades de saúde e os responsáveis pela saúde pública para a sua eventual entrada no país, como por exemplo, o West Nile Virus, o Dengue, a Malária e o Zika.

O conhecimento da presença do parasita *Dirofilaria immitis* na população canina e nos vetores em Portugal aumentou na última década, sendo atualmente considerado um país endémico para dirofilariose. Assim sendo, a população Portuguesa está em risco. Apesar disso, ainda existe um desconhecimento geral da comunidade médica. Integrando o conceito “One Health”, Winslow (1957), adoptado pela Organização Internacional de Epizotias (OIE), reforça-se a necessidade de uma estratégia multidisciplinar e a necessidade de divulgação da zoonose à comunidade médica (103) (figura 7).

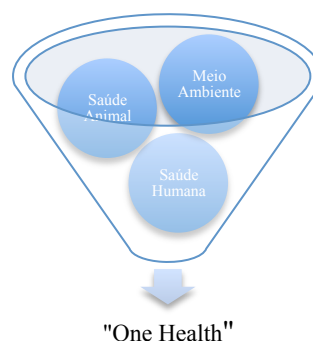


Figura 7: Conceito “One Health”. Adaptado da OIE (103).

F. BIBLIOGRAFIA

1. Leidy J. A Synopsis of Entozoa: And Some of Their Ecto-congeners, Observed by the Author: Merrihew & Thompson; 1856.
2. Knauer KW. Human dirofilariasis. Clinical techniques in small animal practice. 1998;13(2):96-8.
3. Lee AC, Montgomery SP, Theis JH, Blagburn BL, Eberhard ML. Public health issues concerning the widespread distribution of canine heartworm disease. Trends Parasitol. 2010;26(4):168-73.
4. Silva RC, Langoni H. Dirofilariose. Zoonose emergente negligenciada. Ciência Rural. 2009;39(5):1614-23.
5. Muro A, Genchi C, Cordero M, Simon F. Human dirofilariasis in the European Union. Parasitology Today. 1999;15(9):386-9.
6. WHO - World Health Organization (Web Page) [citado 05/12/2015]. Available from: <http://www.who.int/en/>.
7. Montoya-Alonso JA, Gómez E. Dirofilariosis - Pautas de manejo clínico. 1ª ed. Barcelona: Multimédica Ediciones Veterinarias; 2012.
8. Genchi C, Venco L, Ferrari N, Mortarino M, Genchi M. Feline heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection: a statistical elaboration of the duration of the infection and life expectancy in asymptomatic cats. Vet Parasitol. 2008;158(3):177-82.
9. Genchi C, Rinaldi L, Cascone C, Mortarino M, Cringoli G. Is heartworm disease really spreading in Europe? Vet Parasitol. 2005;133(2-3):137-48.
10. Simon F, Gonzalez-Miguel J, Kartashev V, Morchon R, Carreton E, Montoya-Alonso JA. Human dirofilariasis: what is changing. Proceedings of the Third European Dirofilaria Days; 2012 Jun, 21-22; Parma.
11. Simón F, Siles-Lucas M, Morchón R, González-Miguel J, Mellado I, Carreton E, *et al.* Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. Clinical microbiology reviews. 2012;25(3):507-44.
12. Manfredi M, Di Cerbo A, Genchi M. Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. Proceedings of First European Dirofilaria Days; 2007, Feb 22-25 Zagreb.
13. Magalhães PD. Descrição de uma espécie de filarias encontradas no coração humano. Rev Cursos Prát Theor Fac Med Rio de Janeiro. 1887;3:129-215.
14. Rodrigues-Silva R, Moura H, Dreyer G, Rey L. Human pulmonary dirofilariasis: a review. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 1995;37(6):523-30.
15. Bowman DD, Atkins CE. Heartworm biology, treatment, and control. The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice. 2009;39(6):1127-58.
16. Bowman DD. Georgis' parasitology for veterinarians. 10ª ed. Missouri: Elsevier Health Sciences; 2014.
17. Manfredi M, Vieira C, Bandi C, Casiraghi M, Simon F. Phylogeny, systematic and structural aspects. In: Simón F, Genchi C, editors. Heartworm infection in humans and animals. 1ª ed. Salamanca: Ed. Univ. de Salamanca; 2001. p. 19-40.
18. Song KH, Tanaka S, Hayasaki M. Scanning electron microscopic observation of ultrastructure of *Dirofilaria immitis* microfilaria. The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science. 2009;71(6):779-83.
19. Furtado AP, Melo FT, Giese EG, dos Santos JN. Morphological redescription of *Dirofilaria immitis*. The Journal of parasitology. 2010;96(3):499-504.
20. Hoch H, Strickland K. Canine and feline dirofilariasis: life cycle, pathophysiology, and diagnosis. Compendium (Yardley, PA). 2008;30(3):133-40.
21. McCall J, Genchi C, Kramer L, Guerrero J, Venco L. Heartworm disease in animals and humans. Advances in parasitology. 2008;66:193-285.
22. Genchi C, Guerrero J, McCall J, Venco L. Epidemiology and prevention of Dirofilaria infections in dogs and cats. Proceedings of the First European Dirofilaria Days; 2007 Feb, 22-25; Zagreb.
23. Cancrini G, Gabrielli S, editors. Vectors of *Dirofilaria* nematodes: biology, behaviour and host/parasite relationship. Proceedings of the First European Dirofilaria Days; 2007 Feb 22-25; Zagreb.
24. Genchi C, Rinaldi L, Mortarino M, Genchi M, Cringoli G. Climate and Dirofilaria infection in Europe. Vet Parasitol. 2009;163(4):286-92.
25. Morchon R, Carreton E, Gonzalez-Miguel J, Mellado-Hernandez I. Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe - New Distribution Trends. Frontiers in physiology. 2012;3:196.
26. Kittleson MD. Heartworm infection and disease (Dirofilariasis). In: Kittleson MD, Kienle RD, editors. Small animal cardiovascular medicine textbook. 1ª ed: Elsevier; 1998.

27. Vieira C, Villar E, Cecilian F, Simon F. The biology and biochemistry of the species of the genus *Dirofilaria* In: Simón F, Genchi C, editors. Heartworm infection in humans and animals. Salamanca: Heartworm infection in humans and animals; 2001. p. 42-62.
28. Nayar JK, Rutledge CR. Mosquito-borne dog heartworm disease: University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS; 1998.
29. Dantas-Torres F, Otranto D. Dirofilariosis in the Americas: a more virulent *Dirofilaria immitis*? Parasit Vectors. 2013;6(1):288.
30. Kronefeld M, Kampen H, Sassnau R, Werner D. Molecular detection of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Setaria tundra* in mosquitoes from Germany. Parasit Vectors. 2014;7:30.
31. Yildirim A, Inci A, Duzlu O, Biskin Z, Ica A, Sahin I. *Aedes vexans* and *Culex pipiens* as the potential vectors of *Dirofilaria immitis* in Central Turkey. Vet Parasitol. 2011;178(1-2):143-7.
32. Cancrini G, Frangipane di Regalbono A, Ricci I, Tessarin C, Gabrielli S, Pietrobelli M. *Aedes albopictus* is a natural vector of *Dirofilaria immitis* in Italy. Vet Parasitol. 2003;118(3-4):195-202.
33. Pires CA, Ribeiro H, Capela RA, Ramos HC. Research on the mosquitoes of Portugal (Diptera: Culicidae) VI. The mosquitoes of Alentejo. An do Inst de Hig e Med Trop. 1982;8:79-102.
34. Ribeiro H, Ramos HC, Novo MT. Prevalências hemáticas dos vectores da dirofilariose no sudeste de Portugal. Acta Parasitológica Portuguesa. 1993;1(1):21-4.
35. Almeida C. Prevalência de dirofilariose felina na região do Sado. In:FMV-UT Lisboa, editor. Dissertação para a obtenção do grau de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária, 2010.
36. Santa-Ana M, Khadem M, Capela R. Natural infection of *Culex theileri* (Diptera: Culicidae) with *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) on Madeira Island, Portugal. J Med Entomol. 2006;43(1):104-6.
37. Gouveia SA. Susceptibility of mosquito vectors to *Dirofilaria immitis* on Madeira Island, Portugal. In: Madeira Ud, editor. Dissertação para a obtenção do grau de Doutoramento, 2007.
38. Mixão V, Ferreira AC, Calado M, Belo S, Almeida A, Gouveia de Almeida AP, et al. Potenciais vetores de dirofilariose canina nos distritos de Coimbra, Santarém e Setúbal 2011-2013. Acta Parasitológica Portuguesa. 2014;20(1/2):146-7.
39. Osório HC, Zé-Zé L, Alves MJ. Host-feeding patterns of *Culex pipiens* and other potential mosquito vectors (Diptera: Culicidae) of West Nile virus (Flaviviridae) collected in Portugal. Journal of medical entomology. 2012;49(3):717-21.
40. Kramer F. Alterações climáticas estão abrir caminho para a expansão das CVBD? CVBD Digest. 2006; 3.
41. Colwell DD, Dantas-Torres F, Otranto D. Vector-borne parasitic zoonoses: emerging scenarios and new perspectives. Vet Parasitol. 2011;182(1):14-21.
42. Genchi C, Mortarino M, Rinaldi L, Cringoli G, Traldi G, Genchi M. Changing climate and changing vector-borne disease distribution: the example of *Dirofilaria* in Europe. Vet Parasitol. 2011;176(4):295-9.
43. Mortarino M, Musella V, Costa V, Genchi C, Cringoli G, Rinaldi L. GIS modeling for canine dirofilariosis risk assessment in central Italy. Geospatial health. 2008;2(2):253-61.
44. Alho A, Nunes T, Rinaldi L, Meireles J, Belo S, Deplazes P, et al. Transmission risk of Dirofilariosis in Portugal. Parasites & Vectors. 2014;7(Suppl 1):O16.
45. Vezzani D, Carbajo AE. Spatial and temporal transmission risk of *Dirofilaria immitis* in Argentina. International journal for parasitology. 2006;36(14):1463-72.
46. Simon F, Lopez-Belmonte J, Marcos-Atxutegi C, Morchon R, Martin-Pacho JR. What is happening outside North America regarding human dirofilariasis? Vet Parasitol. 2005;133(2-3):181-9.
47. Cambournac F, Pitta Simões J. Sobre a frequência da infestação dos cães por *Dirofilaria immitis* Leidy, em Águas de Moura. Anais do Instituto de Higiene e Medicina Tropical. 1943;1:115-25.
48. Pereira da Fonseca I, Madeira de Carvalho L, Carvalho S, Carvalho-Varela M. Prevalência da dirofilariose na população canina portuguesa. Detecção de microfilárias sanguíneas. Vet Técnica. 1991;Set/Out:36-8.
49. Araújo AM. Canine and Human *Dirofilaria immitis* infection in Portugal. A review. VII European Multicolloquium of Parasitology. Parma, Italy, 2-6 September 1996. Abstracts. Parassitologia. 1996;38(1-2):1-479.
50. Cardoso L, Mendao C, Madeira de Carvalho L. Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma spp.* and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal--a national serological study. Parasit Vectors. 2012;5:62.
51. Clemente MLT. Prevalence of canine dirofilariosis on Madeira Island. Detection and identification of microfilariae. Veterinária Técnica. 1996;6(4):34-7.

52. Rendall-Rocah C, Fonseca I, Cardoso L. *Dirofilaria immitis* infection and dirofilariosis in dogs from Baixo Vouga (Central Portugal) (Poster). Proceedings of Third European *Dirofilaria* Days; 2012 Jun, 21-22; Parma.
53. Vieira AL, Vieira MJ, Oliveira JM, Simões AR, Díez-Baños P, Gestal J. Prevalence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs of central Portugal. Parasite. 2014;21.
54. Alho AM, Landum M, Madeira de Carvalho L, Meireles J, Gonçalves L, Belo S. Updating the epidemiological status of canine dirofilariosis in Portugal - preliminary results. Proceedings of the Third European *Dirofilaria* Days; 2012 21-22 Jun; Parma.
55. Alho AM, Landum M, Ferreira C, Meireles J, Gonçalves L, de Carvalho LM, et al. Prevalence and seasonal variations of canine dirofilariosis in Portugal. Vet Parasitol. 2014;206(1-2):99-105.
56. Alho AM, Félix L, Meireles J, Belo S, Madeira de Carvalho L. Parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares em canídeos - estudo epidemiológico em canis de Portugal Continental. Acta Parasitológica Portuguesa. 2014;20(1/2):122-3.
57. McCall JW, Genchi C, Kramer LH, Guerrero J, Venco L. Heartworm disease in animals and humans. Advances in parasitology. 2008;66:193-285.
58. McCall JW, Genchi C, Kramer L, Guerrero J, Dzimirski MT, Supakorndej P, et al. Heartworm and *Wolbachia*: therapeutic implications. Veterinary parasitology. 2008;158(3):204-14.
59. Kramer L. Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. Proceedings of Second European *Dirofilaria* Days; 2009 Set, 16-18; Salamanca.
60. Grandi G, Zivienjak T, Beck R. Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. infection. Proceedings of First European *Dirofilaria* Days; 2007 Fev, 22-25; Zabreb.
61. Morchon R, Simon F, Gonzalez-Miguel J, Mellado-Hernandez I. Relationship *Dirofilaria*/host: cellular and molecular mechanism of the heartworm disease vascular pathology. Proceedings of Second European *Dirofilaria* Days; 2009 Set, 16-18.
62. Kitagawa H, Sasaki Y, Sukigara T, Ishihara K. Clinical studies on canine dirofilarial hemoglobinuria: changes in right heart hemodynamics inducing heartworm migration from pulmonary artery. Nihon juigaku zasshi The Japanese journal of veterinary science. 1987;49(3):485-9.
63. Venco L. Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs. Proceedings of First European *Dirofilaria* Days; 2007 Fev, 22-25; Zagreb.
64. Labarthe N, de Campos Pereira M, Barbarini O, McKee W, Coimbra CA, Hoskins J. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. Veterinary therapeutics : research in applied veterinary medicine. 2003;4(1):67-75.
65. Meriem-Hind B, Mohamed M. Prevalence of canine *Dirofilaria immitis* infection in the city of Algiers, Algeria. African Journal of Agricultural Research. 2009;4(10):1097-100.
66. Villeneuve A, Goring J, Marcotte L, Overvelde S. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, and *Dirofilaria immitis* among dogs in Canada. The Canadian veterinary journal. La revue veterinaire canadienne. 2011;52(5):527-30.
67. Venco L. New insight into HW disease management: from old legends to the present looking to the future. Proceedings of Second European *Dirofilaria* Days; 2009 Set, 16-18; Salamanca.
68. Sevimli FK, Kozan E, Bulbul A, Birdane FM, Kose M, Sevimli A. *Dirofilaria immitis* infection in dogs: unusually located and unusual findings. Parasitology research. 2007;101(6):1487-94.
69. Simon F, Siles-Lucas M, Morchon R, Gonzalez-Miguel J, Mellado I, Carreton E, et al. Human and animal dirofilariosis: the emergence of a zoonotic mosaic. Clinical microbiology reviews. 2012;25(3):507-44.
70. Atkins CE. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2003;222(9):1221-3.
71. Venco L, McCall JW, Guerrero J, Genchi C. Efficacy of long-term monthly administration of ivermectin on the progress of naturally acquired heartworm infections in dogs. Veterinary parasitology. 2004;124(3-4):259-68.
72. McCall J. Update American Heartworm Society Canine Guidelines with emphasis on the role of doxycycline in adulticidal therapy. Proceedings of Second European *Dirofilaria* Days; 2009 Set, 16-18; Salamanca.
73. American Heartworm Society (AHS) [Web page], [citado 15/12/2015]. Available from: <https://www.heartwormsociety.org/>.
74. Venco L. Radiology vs Ecocardiography. How to squeeze the best from each of them for staging, monitoring and choosing the best therapy in heartworm disease in dogs. Proceedings of Fourth European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days (FEDAD); 2014 Jul, 2-4; Budapest.
75. American Heartworm Society (AHS). Current canine guidelines for the diagnosis, prevention, and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs and cats [Web page], [citado 15/12/2015]. Available from: <http://www.heartwormsociety.org/>.

76. American Heartworm Society (AHS). Diagnosis, prevention and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs [Web page], [citado 15/12/2015]. Available from: <http://www.heartwormsociety.org/>.
77. Hoch H, Strickland K. Canine and feline dirofilariasis: prophylaxis, treatment, and complications of treatment. Compendium (Yardley, PA). 2008;30(3):146-51; quiz 51-2.
78. Boy MG, Six RH, Thomas CA, Novotny MJ, Smothers CD, Rowan TG, *et al.* Efficacy and safety of selamectin against fleas and heartworms in dogs and cats presented as veterinary patients in North America. Veterinary parasitology. 2000;91(3-4):233-50.
79. Theis J. Public health aspects of dirofilariasis in the United States. Veterinary parasitology. 2005;133(2):157-80.
80. Ciferri F. Human pulmonary dirofilariasis in the West. Western Journal of Medicine. 1981;134(2):158.
81. Cavallazzi RS, Cavallazzi AC, Souza IV, Cardoso JD. Dirofilariose pulmonar humana: relato de sete casos. J Pneumol. 2002;28(2):101.
82. Simon F, Morchon R, Gonzalez-Miguel J, Marcos-Atxutegi C, Siles-Lucas M. What is new about animal and human dirofilariosis? Trends Parasitol. 2009;25(9):404-9.
83. Vezzani D, Carbajo AE, Fontanarrosa MF, Scodellaro CF, Basabe J, Cangiano G, *et al.* Epidemiology of canine heartworm in its southern distribution limit in South America: Risk factors, inter-annual trend and spatial patterns. Vet Parasitol. 2011;176(2-3):240-9.
84. Lee KJ, Park GM, Yong TS, Im K, Jung SH, Jeong NY, *et al.* The first Korean case of human pulmonary dirofilariasis. Yonsei medical journal. 2000;41(2):285-8.
85. Simon F, Cordero M, Muro A, Villar E, Perera L, Espinoza E, *et al.* Public health problems due to *Dirofilaria*: the Spanish situation. Veterinary research communications. 1996;20(4):340-4.
86. Montoya-Alonso JA, Carreton E, Corbera JA, Juste MC, Mellado I, Morchon R, *et al.* Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria, Spain. Vet Parasitol. 2011;176(4):291-4.
87. Montoya-Alonso JA, Mellado I, Carreton E, Cabrera-Pedrero ED, Morchon R, Simon F. Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain. Parasitol Res. 2010;107(5):1265-9.
88. Morchon R, Moya I, Gonzalez-Miguel J, Montoya MN, Simon F. Zoonotic *Dirofilaria immitis* infections in a province of Northern Spain. Epidemiology and infection. 2010;138(3):380-3.
89. Prieto G, Cancrini G, Muro A, Genchi C, Simon Martin F. Seroepidemiology of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in humans from three areas of Southern Europe. Research and Reviews in Parasitology. 2000;60(3/4):95-8.
90. Tasic-Otasevic SA, Gabrielli SV, Tasic AV, Miladinovictasic NL, Kostic JT, Ignjatovic AM, *et al.* Seroreactivity to *Dirofilaria* antigens in people from different areas of Serbia. BMC infectious diseases. 2014;14:68.
91. Villanueva EJ, Rodriguez-Perez J. Immunodiagnosis of human dirofilariasis in Puerto Rico. The American journal of tropical medicine and hygiene. 1993;48(4):536-41.
92. Welch JS, Dobson C. The prevalence of antibodies to *Dirofilaria immitis* in aboriginal and Caucasian Australians. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1974;68(6):466-72.
93. Belo S, Afonso A, Gonçalves A. Dirofilariose Humana em Portugal: parasitose desconhecida ou negligenciada? Acta Parasitológica Portuguesa. 2014;20(1/2):105-6.
94. Baptista-Fernandes T, Rodrigues M, Domingues D, Monteiro L, Paixao P, Pereira P, *et al.* Dirofilariasis by *Dirofilaria repens*: an imported case and a brief review. Parasitology international. 2015;64(5):261-3.
95. Maia C, Lorentz S, Cardoso L, Otranto D, Naucke TJ. Detection of *Dirofilaria repens* microfilariae in a dog from Portugal. Parasitology research. 2015:1-3.
96. Gouveia de Almeida AP. Mosquitoes (Diptera, Culicidae) and their medical importance for Portugal: challenges for the 21st century. Acta medica portuguesa. 2011;24(6):961-74.
97. Echeverri A, Long R, Check W, Burnett C. Pulmonary dirofilariasis. The Annals of thoracic surgery. 1999;67(1):201-2.
98. Dantas-Torres F, Otranto D. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box. Parasites & vectors. 2014;7:22.
99. Theis JH. Public health aspects of dirofilariasis in the United States. Veterinary parasitology. 2005;133(2-3):157-80.
100. Kang HJ, Park YS, Lee CH, Lee SM, Yim JJ, Yoo CG, *et al.* A case of human pulmonary dirofilariasis in a 48-year-old Korean man. The Korean journal of parasitology. 2013;51(5):569-72.

101. Perera L, Perez-Arellano JL, Cordero M, Simon F, Muro A. Utility of antibodies against a 22 kD molecule of *Dirofilaria immitis* in the diagnosis of human pulmonary dirofilariasis. Tropical medicine & international health : TM & IH. 1998;3(2):151-5.
102. Diaz JH. Increasing Risks of Human Dirofilariasis in Travelers. Journal of travel medicine. 2015;22(2):116-23.
103. Organização Internacional de Epizootias [Web page], [citado 15/01/2016]. Available from: <http://www.oie.int/>.
104. Tornieporth N, Brandis A, Vogel B, Disko R. Autochthonous pulmonary dirofilariasis in Europe (abstract). Deutsche medizinische Wochenschrift (1946). 1990;115(1):15-9.
105. Jelinek T, Schulte-Hillen J, Loscher T. Human dirofilariasis (abstract). International journal of dermatology. 1996;35(12):872-5.
106. Caballer B, Pérez N, Elsner B, Esteva H, Eyehremendy E. Dirofilariasis pulmonar: presentación de dos casos. Rev argent cir. 1994;67(6):172-4.
107. Barcat JA, Isidoro R, Alume HS. Cartas al comite de redaccion Dirofilariasis pulmonar. Medicina (Buenos Aires). 1999;59:218-20.
108. Riache R, Godoy R, Godoy D, Del Curto O. Dirofilariasis immitis pulmonar: Presentación de un caso y revisión de la bibliografía. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad Nacional del Nordeste. 2001.
109. Vezzani D, Eiras DF, Wisnivesky C. Dirofilariasis in Argentina: historical review and first report of *Dirofilaria immitis* in a natural mosquito population. Vet Parasitol. 2006;136(3-4):259-73.
110. Kelly W, Firouz-Abadi A, Roszkowski A, Zimmerman P. Pulmonary dirofilariasis diagnosed by computerised tomography scan controlled percutaneous needle aspiration (abstract). Australian and New Zealand journal of medicine. 1985;15(5):656-7.
111. Narine K, Brennan B, Gilfillan I, Hodge A. Pulmonary presentation of *Dirofilaria immitis* (canine heartworm) in man (abstract). European journal of cardio-thoracic surgery. 1999;16(4):475-7.
112. Leonardi H, Lapey J, Ellis F. Pulmonary dirofilariasis: report of a human case. Thorax. 1977;32(5):612-5.
113. Milanez de Campos JR, Barbas CS, Filomeno LT, Fernandez A, Minamoto H, Filho JV, et al. Human pulmonary dirofilariasis: analysis of 24 cases from Sao Paulo, Brazil. Chest. 1997;112(3):729-33.
114. Amato Neto V, Amato VS, Moraes Júnior AD, Cerri GG. Case report: human pulmonary dirofilariasis acquired in Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo. 1993;35(5):457-60.
115. Amato VS, Neto VA, Ulp DE, Boulos M. Novo casos de dirofilária pulmonar humana adquirida no brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 1995;28(3):285-6.
116. Cardoso J, Silva F, Silveira R, Valle A, Nobre L, Souza IV. Múltiplos nódulos pulmonares–Dirofilariose. Jornal de Pneumologia. 2002;28:S81.
117. Rodrigues-Silva R, Guerra RJ, de Almeida FB, Machado-Silva JR, de Paiva DD. Human pulmonary dirofilariasis at Rio de Janeiro, Brazil: a case report. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2004;37(1):56-9.
118. Vital RJ, de Mattos LA, Meirelles GSP. Human pulmonary dirofilariasis: atypical presentation of a rare disease. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2006;39(1):94-5.
119. Lagrotteria DD, Crowther MA, Lee CH, Peregrine A. A 44-year-old woman with dry cough and solitary nodule. CMAJ : Canadian Medical Association journal. 2003;169(7):696-7.
120. Lee K-J, Yong S-J, Shiné K-C. The First Korean Case of Human Pulmonary Dirofilariasis. Yonsei medical journal. 2000;41(2):285-8.
121. Brenes R, Beaver PC, Monge E, Zamora L. Pulmonary dirofilariasis in a Costa Rican man. The American journal of tropical medicine and hygiene. 1985;34(6):1142-3.
122. Cordero M, Muro A, Simón F, Tapia J, Espinoza E. Are transient pulmonary solitary nodules a common event in human dirofilariosis? The clinical investigator. 1992;70(5):437-40.
123. Hussein M, Rodríguez P, Gil R, Herrero J. Pulmonary dirofilariasis. A cause of solitary pulmonary nodule. Cirugia espanola. 2007;82(6):369-.
124. Goodman ML, Gore I. Pulmonary infarct secondary to *Dirofilaria* larvae. Archives of internal medicine. 1964;113(5):702-5.
125. Beaver PC, Orihel TC. Human infection with filariae of animals in the United States (abstract). The American journal of tropical medicine and hygiene. 1965;14(6):1010-29.
126. Abadie SH, Swartzwelder JC, Holman RL. A human case of *Dirofilaria immitis* infection (abstract). The American journal of tropical medicine and hygiene. 1965;14(1):117-8.
127. Harrison Jr E, Thompson Jr J. Dirofilariasis of human lung. American journal of clinical pathology. 1965;43:224.

128. Beskin CA, Colvin SH, Beaver PC. Pulmonary dirofilariasis: Cause of pulmonary nodular disease. *JAMA*. 1966;198(6):665-7.
129. Tuazon RA, Firestone F, Blaustein AU. Human Pulmonary Dirofilariasis Manifesting as a Coin Lesion: A Case Report. *JAMA*. 1967;199(1):45-6.
130. Tannehill Jr A, Hatch Jr H. Coin lesions of the lung due to *Dirofilaria immitis* (abstract). Report of a case. *Diseases of the chest*. 1968;53(3):369-71.
131. Navarrete-Reyna A, Noon G. Pulmonary dirofilariasis manifested as a coin lesion. Report of a case and review of the literature (abstract). *Archives of pathology*. 1968;85(3):266-71.
132. Spear HC, Daughtry D, Chesney JG, Gentsch TO, Larsen PB. Solitary pulmonary lesion due to dirofilaria. *The New England journal of medicine*. 1968;278(15):832-3.
133. Neafie R, Piggott J. Human pulmonary dirofilariasis (abstract). *Archives of pathology*. 1971;92(5):342-9.
134. Navarrete A. Pulmonary dirofilariasis. *CHEST Journal*. 1972;61(1):51-5.
135. Feld H. *Dirofilaria immitis* (Dog Heartworm) as a Cause of a Pulmonary Lesion in Man. *Radiology*. 1973;108(2):311-2.
136. Gershwin LJ, Gershwin ME, Kritzman J. Human pulmonary dirofilariasis. *Chest*. 1974;66(1):92-6.
137. Hoch W, Wershba M, Patchefsky A. Pulmonary dirofilariasis (abstract). *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1974;67(1):159-63.
138. Awe RJ, Mattox KL, Alvarez BA, Stork WJ, Estrada R, Greenberg SD. Solitary and Bilateral Pulmonary Nodules Due to *Dirofilaria immitis*. *American Review of Respiratory Disease*. 1975;112(3):445-9.
139. Flieder DB, Moran CA. Pulmonary dirofilariasis: a clinicopathologic study of 41 lesions in 39 patients. *Human pathology*. 1999;30(3):251-6.
140. Prioleau WH, Parker EF, Bradham RR, Gregorie H. *Dirofilaria immitis* (dog heartworm) as a pulmonary lesion in humans. *The Annals of thoracic surgery*. 1976;21(5):382-5.
141. Riskin W, Toppell K. Pulmonary dirofilariasis: another coin lesion (abstract). *Southern medical journal*. 1977;70:502-3.
142. Robinson N, Chavez C, Conn J. Pulmonary dirofilariasis in man. A case report and review of the literature (abstract). *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1977;74(3):403-8.
143. Scully R, Galdabini J. Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Case 13-1979. *N Engl J Med*. 1979;300(13):723-9.
144. Levinson ED, Ziter Jr FM, Westcott JL. Pulmonary Lesions Due to *Dirofilaria immitis* (dog heartworm) Report of Four Cases with Radiologic Findings (abstract). *Radiology*. 1979;131(2):305-7.
145. Larrieu A, Wiener I, Gomez L, Williams E. Human pulmonary dirofilariasis presenting as a solitary pulmonary nodule. *CHEST Journal*. 1979;75(4):511-2.
146. Levine S, Mossler J, Woodard B. *Dirofilaria immitis*: a zoonosis of clinical concern (abstract). *Southern medical journal*. 1980;73(6):749-50.
147. Merrill JR, Otis J, Logan WD, Davis MB. The dog heartworm (*Dirofilaria immitis*) in man: An epidemic pending or in progress? *JAMA*. 1980;243(10):1066-8.
148. Darrow JC, Lack EE. Solitary lung nodule due to *Dirofilaria immitis* (dog "heartworm"). *Journal of surgical oncology*. 1981;16(3):219-24.
149. Kahn FW, Wester SM, Agger WA. Pulmonary dirofilariasis and transitional cell carcinoma. Benign lung nodules mimicking metastatic malignant neoplasms (abstract). *Arch Intern Med*. 1983;143(6):1259-60.
150. Adkins Jr RB, Dao A. Pulmonary dirofilariasis: a diagnostic challenge (abstract). *Southern medical journal*. 1984;77(3):372-4.
151. Hawkins A, Hsiu J-G, Smith 3rd R, Stitik F, Siddiky M, Edwards O. Pulmonary dirofilariasis diagnosed by fine needle aspiration biopsy. A case report (abstract). *Acta cytologica*. 1984;29(1):19-22.
152. Lum GB. An unusual etiology of multiple pulmonary nodules (abstract). *Investigative radiology*. 1985;20(6):574-8.
153. Kochar A. Human pulmonary dirofilariasis. Report of three cases and brief review of the literature. *American journal of clinical pathology* (abstract). 1985;84(1):19-23.
154. Smith L, Schillaci R. Pulmonary dirofilariasis in humans--pneumonitis that evolved to a lung nodule. *Western Journal of Medicine*. 1986;145(4):516.
155. Ro JY, Tsakalakos PJ, White VA, Luna MA, Chang-Tung EG, Green L, et al. Pulmonary dirofilariasis: the great imitator of primary or metastatic lung tumor. A clinicopathologic analysis of seven cases and a review of the literature. *Human pathology*. 1989;20(1):69-76.

156. Risher W, Crocker Jr E, Beckman E, Blalock J, Ochsner J. Pulmonary dirofilariasis. The largest single-institution experience (abstract). *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1989;97(2):303-8.
157. Bradham RR, Locklair PR, Grimball A. Bilateral pulmonary nodules caused by *Dirofilaria immitis* (abstract). *The Annals of thoracic surgery*. 1990;50(2):312-3.
158. Bailey TS, Sohrabi A, Roberts AS. Pulmonary coin lesions caused by *Dirofilaria immitis* (abstract). *Journal of surgical oncology*. 1990;44(4):268-72.
159. Bloch T, Glynn T, Hinshaw M. Human pulmonary dirofilariasis (abstract). *Indiana medicine: the journal of the Indiana State Medical Association*. 1990;83(1):24-7.
160. Jernigan J. An unusual cause of solitary pulmonary nodule (abstract). *Journal of the Tennessee Medical Association*. 1990;83(11):561.
161. Watson J, Wetzel W, Burkhalter J. Human disease caused by dog heartworm (abstract). *Journal of the Mississippi State Medical Association*. 1991;32(11):399-401.
162. Diaz JI, Ladaga LH, Cundiff M, Baker J. Dog heartworm causing necrotizing granuloma of the lung. *Cleveland Clinic journal of medicine*. 1991;58(1):39-42.
163. Asimacopoulos P, Katras A, Christie B. Pulmonary dirofilariasis. The largest single-hospital experience. *CHEST Journal*. 1992;102(3):851-5.
164. Nicholson CP, Allen MS, Trastek VF, Tazelaar HD, Pairolero PC. *Dirofilaria immitis*: a rare, increasing cause of pulmonary nodules (abstract). *Mayo Clinic Proceedings*; 1992: Elsevier.
165. Roy B, Chirugi VA, Theis JH. Pulmonary dirofilariasis in California. *Western journal of medicine*. 1993;158(1):74.
166. Jarratt M. Solitary pulmonary nodule in a 62-year-old man (abstract). *CHEST journal*. 1995;107(1):271-3.
167. Echeverri A, Long RF, Check W, Burnett CM. Pulmonary dirofilariasis. *The Annals of thoracic surgery*. 1999;67(1):201-2.
168. Bielawski BC, Harrington D, Joseph E. A solitary pulmonary nodule with zoonotic implications. *CHEST Journal*. 2001;119(4):1250-2.
169. Mumtaz H, Ozdemir A, Schaefer R. Case of the month. A case report of human pulmonary dirofilariasis in Arkansas (abstract). *The Journal of the Arkansas Medical Society*. 2004;100(7):240-2.
170. Foroulis C, Khaldi L, Desimonas N, Kalafati G. Pulmonary dirofilariasis mimicking lung tumor with chest wall and mediastinal invasion. *The Thoracic and cardiovascular surgeon*. 2005;53(3):173-5.
171. Mulanovich EA, Mulanovich VE, Rolston KV. A case of *Dirofilaria* pulmonary infection coexisting with lung cancer. *Journal of Infection*. 2008;56(4):241-3.
172. Naik-Mathuria B, O'Mahony C, Goss JA. Canine heartworm mimicking pulmonary metastasis in a liver transplant candidate, *Surgical Rounds*. 2008;21(2):75-7.
173. Biswas A, Reilly P, Perez A, Yassin MH. Human pulmonary dirofilariasis presenting as a solitary pulmonary nodule: A case report and a brief review of literature. *Respiratory Medicine Case Reports*. 2013;10:40-2.
174. Monchy D, Levenes H, Guegan H, Poey C, Dubourdiou D. Pulmonary dirofilariasis (abstract). *Medecine tropicale: revue du Corps de sante colonial*. 1992;53(3):366-71.
175. Miliaras D, Meditskou S, Kelekis A, Papachristos I. Human pulmonary *Dirofilariasis*: one more case in Greece suggests that *Dirofilaria* is a rather common cause of coin lesions in the lungs in endemic areas of Europe. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2010;23(1):345-8.
176. Solaini L, Gourgiotis S, Salemis NS, Solaini L. A case of human pulmonary dirofilariasis. *International Journal of Infectious Diseases*. 2008;12(6):e147-e8.
177. Makiya K, Tsukamoto M, Kagei N. Fifty-six cases of human dirofilariasis reported in Japan--a compiled table (abstract). *Journal of UOEH*. 1987;9(2):233-42.
178. Yoshimura H, Yokogawa M, Monma R, Yarato K, A T. A case of pulmonary dirofilariasis causing acute infarct of the lung (abstract). *JPN Med J*. 1968;2348:26-9.
179. Makiya K, Tsukamoto M, Manabe H, Asano S, Iwata Y. A human case of pulmonary dirofilariasis suspected to be lung cancer. *Journal of UOEH*. 1987;9(2):227-32.
180. Makiya K, Tsukamoto M, Manabe H, Iwata Y. Pulmonary dirofilariasis found unexpectedly during thymectomy (abstract). *Journal of UOEH*. 1988;10(3):325-30.
181. Yamashiro T, Inoue A, Tamiya T, Suzuki N, Moriki T, Araki K. The usefulness of immunologic methods for diagnosis and follow-up study of a case of pulmonary dirofilariasis (abstract). *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai zasshi*. 1989;27(6):747-53.
182. Kido A, Ishida T, Oka T, Tateishi M, Mitsudomi T, Sugimachi K. Pulmonary dirofilariasis causing a solitary lung mass and pleural effusion. *Thorax*. 1991;46(8):608-9.

183. Akaogi E, Ishibashi O, Mitsui K, Hori M, Ogata T. Pulmonary dirofilariasis cytologically mimicking lung cancer (abstract). *Acta cytologica*. 1992;37(4):531-4.
184. Kuraki T, Kobayashi H, Shikata S, Uwabe Y, Nagata N, Watanabe M, *et al.* Pulmonary dirofilariasis with cavity formation and spontaneous regression (abstract). *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai zasshi*. 1996;34(6):685-8.
185. Miura T, Tanaka K, Uchida Y, Kawano Y, Tamai H, Hadama T, *et al.* A case of pulmonary dirofilariasis diagnosed through thoracoscopic lung biopsy (abstract). *Kyobu geka The Japanese journal of thoracic surgery*. 1996;49(3):187-9.
186. Hiroshima K, Iyoda A, Toyozaki T, Fujisawa T, Aosai F, Kobayashi M, *et al.* Human Pulmonary Dirofilariasis. Report of Six Cases. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 1999;189(4):307-14.
187. Sako T, Burioka N, Suyama H, Kinugasa Y, Watanabe M, Hirai K, *et al.* Human pulmonary dirofilariasis presenting as a small nodule with a cavity (abstract). *Journal of Medical Investigation*. 2000;47(3/4):161-3.
188. Kojima T, Kataoka K, Kataoka M, Shibuya Y, Aji T, Fujiwara T, *et al.* A case of pulmonary dirofilariasis. *Kyobu geka The Japanese journal of thoracic surgery*. 2001;54(10):889-91.
189. Yoshino N, Hisayoshi T, Sasaki T, Yamauchi S, Oaki Y, Hino M. Human pulmonary dirofilariasis in a patient whose clinical condition altered during follow-up. *The Japanese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2003;51(5):211-3.
190. Hirano H, Kizaki T, Sashikata T, Matsumura T. Pulmonary dirofilariasis-clinicopathological study. *Kobe Journal of Medical Sciences*. 2002;48(3/4):79-86.
191. Mori S-i, Hirotsu Y, Mizoguchi A, Kawabata M, Nakamura-Uchiyama F, Nawa Y, *et al.* Pulmonary dirofilariasis with serologic study on familial infection with *Dirofilaria immitis*. *Internal medicine*. 2004;43(4):327-30.
192. Miyoshi T, Tsubouchi H, Iwasaki A, Shiraishi T, Nabeshima K, Shirakusa T. Human pulmonary dirofilariasis: a case report and review of the recent Japanese literature. *Respirology*. 2006;11(3):343-7.
193. Takayama Y, Nakamura Y, Hamai K, Sugahara F, Egawa H, Mukaida H, *et al.* Case of pulmonary dirofilariasis with cavity formation in a young woman (abstract). *Nihon Kokyuki Gakkai zasshi/the journal of the Japanese Respiratory Society*. 2009;47(5):372-5.
194. Magono N, Yosimatu H, Suzuki Y, Yamada E, Kasai Y, Masuya D, *et al.* A case of pulmonary dirofilariasis diagnosed by biopsy, immunological tests and the clinical course without operation (abstract). *Nihon Kokyuki Gakkai zasshi/ the journal of the Japanese Respiratory Society*. 2009;47(6):467-70.
195. Oshiro Y, Murayama S, Sunagawa U, Nakamoto A, Owan I, Kuba M, *et al.* Pulmonary dirofilariasis: computed tomography findings and correlation with pathologic features (abstract). *Journal of computer assisted tomography*. 2004;28(6):796-800.
196. So T, Mitsueda R, Miyata T, Sekimura A, Yoshimatsu T, Nose N, *et al.* Pulmonary dirofilariasis in a 59-year-old man. *Journal of surgical case reports*. 2014;2014(8):rju082.
197. Takei D, Yamaki M, Noriyuki T, Takemoto Y, Kawashima M, Saitoh R, *et al.* Pulmonary Dirofilariasis (abstract). *Kyobu geka The Japanese journal of thoracic surgery*. 2015;68(1):76-9.
198. Jagusch M, Roberts R, Rea H, Priestley D. Human pulmonary dirofilariasis (abstract). *The New Zealand medical journal*. 1984;97(762):556-8.
199. Li C-Y, Chang Y-L, Lee Y-C. Human pulmonary dirofilariasis coexisting with intercostal neurilemmoma: A case report and literature review (abstract). *Journal of the Formosan Medical Association*. 2013;112(10):644-7.
200. Dobson C, Welch JS. Dirofilariasis as a cause of eosinophilic meningitis in man diagnosed by immunofluorescence and Arthus hypersensitivity (abstract). *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1974;68(3):223-8.
201. Cuervo PF, y Sierra RM, Waisman V, Gerbeno L, Sidoti L, Albonico F, *et al.* Detection of *Dirofilaria immitis* in mid-western arid Argentina. *Acta Parasitologica*. 2013;58(4):612-4.
202. Otranto D, Diniz DG, Dantas-Torres F, Casiraghi M, De Almeida I, De Almeida L, *et al.* Human intraocular filariasis caused by *Dirofilaria* sp. nematode, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(5):863-6.
203. Kim MK, Kim CH, Yeom BW, Park SH, Choi SY, Choi JS. The first human case of hepatic dirofilariasis. *Journal of Korean medical science*. 2002;17(5):686-90.
204. Jamshidi A, Jamshidi M, Mobedi I, Khosroara M. Periocular dirofilariasis in a young woman: a case report. *The Korean journal of parasitology*. 2008;46(4):265-7.

205. Požgain Z, Dulić G, Šego K, Blažeković R. Live *Dirofilaria immitis* found during coronary artery bypass grafting procedure (abstract). *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2014;46(1):134-6.
206. Faust EC, Thomas EP, Jones J. Discovery of human heartworm infection in New Orleans. *The Journal of parasitology*. 1941;27(2):115-22.
207. Moorhouse D. *Dirofilaria immitis*: A cause of human intra-ocular infection (abstract). *Infection*. 1978;6(4):192-3.
208. Tada I, Sakaguchi Y, Eto K. *Dirofilaria* in the abdominal cavity of a man in Japan (abstract). *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1979;28(6):988-90.
209. Skidmore J, Dooley P, DeWitt C. Human extrapulmonary dirofilariasis in Texas (abstract). *Southern medical journal*. 2000;93(10):1009-10.
210. Foissac M, Million M, Mary C, Dales J-P, Souraud J-B, Piarroux R, *et al.* Subcutaneous infection with *Dirofilaria immitis* nematode in human, France. *Emerging infectious diseases*. 2013;19(1):171.
211. Falidas E, Gourgiotis S, Ivopoulou O, Koutsogiannis I, Oikonomou C, Vlachos K, *et al.* Human subcutaneous dirofilariasis caused by *Dirofilaria immitis* in a Greek adult. *Journal of infection and public health*. 2015.
212. Badhe BP, Sane SY. Human pulmonary dirofilariasis in India: a case report. *The Journal of tropical medicine and hygiene*. 1989;92(6):425-6.
213. Teerthanath S, Hariprasad S. A case of *Dirofilaria immitis* presenting as an intramuscular soft tissue mass (abstract). *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 2011;54(2):428.
214. Takeuchi T, Asami K, Kobayashi S, Masuda M, Tanabe M, Miura S, *et al.* *Dirofilaria immitis* infection in man: report of a case of the infection in heart and inferior vena cava from Japan (abstract). *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1981;30(5):966-9.
215. Ogasawara T, Murata K, Iesato K, Kominami S, Tomita K, Horie Y, *et al.* Eosinophilic pleural effusion by dirofilariasis (abstract). *Nihon Kokyuki Gakkai zasshi= the journal of the Japanese Respiratory Society*. 2003;41(5):347-50.
216. Abbas KF, El-Monem SGA, Malik Z, Khan AM. Surgery still opens an unexpected bag of worms! An intraperitoneal live female *Dirofilaria* worm: case report and review of the literature. *Surgical infections*. 2006;7(3):323-5.

G. ANEXOS

ANEXO 1

Quadro 1: Características da infecção por *Dirofilaria immitis* em humanos com localização pulmonar.

Ano	País	Sexo	Idade	Localização	Referência
1990	Alemanha	F	39	Dois nódulos pulmonares direitos < 2,5 cm	Tornieporth <i>et al.</i> , (1990) (104) ^a
1996	Alemanha			Infiltrado pulmonar em 2 pacientes	Jelinek <i>et al.</i> , (1996) (105) ^a
1994	Argentina	2M	54 60	Nódulo pulmonar esquerdo 1,5-2 cm	Callaber <i>et al.</i> , (1994)(106)
1999	Argentina	M	53	Nódulo pulmonar	Barcat <i>et al.</i> , (1999) (107)
2001	Argentina	M	35	Nódulo pulmonar	Riache <i>et al.</i> , (2001) (108)
2006	Argentina	4M	35-60	Nódulo pulmonar	Vezzani <i>et al.</i> , (2006) (109)
1985	Austrália	M	52	Nódulo pulmonar direito 1,5 cm	Kelly <i>et al.</i> , (1985) (110) ^a
1999	Austrália	F	36	Nódulo pulmonar direito 2 cm	Narine <i>et al.</i> , (1999) (111) ^a
1977	Brasil		64	Nódulo pulmonar direito	Leonardi <i>et al.</i> , (1977) (112)
1982-1996	Brasil	17 M 7 F	Média 51,4	Nodulo pulmonar periférico supleural	Milanez do Campos <i>et al.</i> , (1997) (113)
1993	Brasil			Dois nódulos pulmonares	Neto <i>et al.</i> , (1993) (114)
1994	Brasil	F	60	Nódulo pulmonar esquerdo	Amato <i>et al.</i> , (1995) (115)
2000	Brasil	5M 2F	42-73	Nódulo pulmonar	Cavallazzi <i>et al.</i> , (2002) (81)
2002	Brasil	F	60	Múltiplos nódulos pulmonares direitos <1,8 cm	Cardoso <i>et al.</i> , (2002) (116)
2004	Brasil		45	Nódulo Pulmonar	Rodrigues-Silva <i>et al.</i> , (2004) (117)
2006	Brasil	M	20	Nódulos pulmonares múltiplos bilaterais	Vital <i>et al.</i> , (2006) (118)
2003	Canadá	F	44	Nódulo pulmonar direito 1,4 cm	Lagrotteria <i>et al.</i> , (2003) (119)
2000	Coreia	M	47	Nódulo pulmonar esquerdo 2,5 cm	Lee <i>et al.</i> , (2000) (120)
2013	Coreia	M	48	Nódulo pulmonar direito 1 cm	Kang <i>et al.</i> , (2013) (100)
1985	Costa Rica	M	33	Enfarte pulmonar hemorrágico	Brene <i>et al.</i> , (1985) (121)
1992	Espanha	M	72	Nódulo pulmonar direito	Cordero <i>et al.</i> , (1992) (122)
2007	Espanha	M	47	Nódulo pulmonar direito	Hussein <i>et al.</i> , (2007) (123)

1964	EUA	F	38	Nódulo pulmonar direito 2cm	Goodman & Gore, (1964) (124)
1965	EUA	1M 4F	35-55	Nódulo pulmonar < 2cm	Beaver & Orihel, (1965) (125) ^a
1965	EUA	F	40	Nódulo pulmonar	Abadie <i>et al.</i> , (1965) (126) ^a
1965	EUA	1M 1F	60 53	Nódulo pulmonar	Harrison & Thompson, (1965) (127)
1966	EUA	F	48	Nódulo pulmonar direito (1) esquerdo (1) < 2cm	Beskin <i>et al.</i> , (1966) (128)
1967	EUA	M	53	Nódulo pulmonar direito	Tuazon <i>et al.</i> , (1967) (129)
1968	EUA	M	48	Nódulo pulmonar esquerdo 1,6 cm	Tannehill & Hatch, (1968) (130) ^a
1968	EUA	M	75	Nódulo pulmonar esquerdo 2,5 cm	Navarrete-Reyna & Noon, (1968) (131) ^a
1968	EUA	1M 1F	57 49	Nódulo pulmonar	Speart <i>et al.</i> , (1968) (132)
1971	EUA	7M 1F	28-72	Nódulo pulmonar esquerdo (2) e direito (4)	Neafie & Piggott, (1971) (133) ^a
1972	EUA	1M 1F	73 49	Nódulo pulmonar direito <4,5cm	Navarrete, (1972) (134)
1973	EUA	1M	45	Nódulo pulmonar direito	Feld, (1973) (135)
1974	EUA	F	48	Nódulo pulmonar 3 cm	Gershwin <i>et al.</i> , (1974) (136)
1974	EUA	2M	56/60	Nódulo pulmonar < 2 cm	Hoch <i>et al.</i> , (1974)(137) ^a
1975	EUA	2M	48/59	Nódulo pulmonar unilateral (1) e bilateral (1)	Awe <i>et al.</i> , (1975) (138)
1975-1996	EUA	23 M 16 F	8 – 80	Nódulo pulmonar	Flieder & Moran, (1999) (139)
1976	EUA	3M 2F	37-76	Nódulo pulmonar < 2 cm	Prioleau <i>et al.</i> , (1976) (140)
1977	EUA	F	67	Nódulo pulmonar esquerdo	Riskin & Toppell, (1977) (141) ^a
1977	EUA	M	66	Nódulo pulmonar esquerdo 2 cm	Robison <i>et al.</i> , (1977) (142) ^a
1978	EUA	M	67	Nódulo pulmonar esquerdo 2 cm	Ciferri (1981) (80)
1979	EUA	M	52	Nódulo pulmonar esquerdo 1 cm	Scully & Galdabini, (1979) (143) ^a
1979	EUA			Nódulo pulmonar em 4 pacientes	Levinson <i>et al.</i> , (1979) (144) ^a
1979	EUA	M	52	Nódulo pulmonar direito 1 cm	Larrieu <i>et al.</i> , (1979) (145)
1980	EUA	M	55	Nódulo pulmonar esquerdo 1,5 cm	Levine <i>et al.</i> , (1980) (146) ^a
1980	EUA	3M	46-72	Nódulo pulmonar direito	Merril <i>et al.</i> , (1980) (147)
1981	EUA	M	66	Nódulo pulmonar direito 2cm	Darrow & Lack, (1981) (148)
1983	EUA	M	79	Nódulo pulmonar bilateral 2- 2,5cm	Kahn <i>et al.</i> , (1983) (149) ^a
1984	EUA	F		Nódulo pulmonar	Adkins <i>et al.</i> , (1984) (150) ^a

1984	EUA	F	62	Nódulo pulmonar bilateral	Hawkins <i>et al.</i> , (1984) (151) ^a
1985	EUA	F	51	Três nódulos pulmonares direito 1,8-4,5cm	Lum, (1985) (152) ^a
1985	EUA	2M 1F	47-62	Nódulo pulmonar direito < 2cm	Kochar, (1985) (153) ^a
1986	EUA	M	50	Nódulo pulmonar direito 2 cm	Smith & Schillaci, (1986) (154)
1989	EUA	4M 2F	35-77	Nódulo pulmonar em 6 pacientes <2,7cm	Ro <i>et al.</i> , (1989) (155)
1989	EUA	2M 4F	33-55	Nódulos pulmonares em 6 pacientes <3cm	Risher <i>et al.</i> , (1989) (156) ^a
1990	EUA	F	44	Nódulos pulmonares bilaterais	Bradham <i>et al.</i> , (1990) (157) ^a
1990	EUA			Nódulo pulmonar em 2 pacientes	Bailey <i>et al.</i> , (1990) (158) ^a
1990	EUA	M	64	Nódulo pulmonar	Bloch <i>et al.</i> , (1990) (159) ^a
1990	EUA	F	68	Nódulo pulmonar 3 cm	Jernighan, (1990) (160) ^a
1991	EUA	F	48-67	Nódulo pulmonar em 3 pacientes <2,5cm	Watson <i>et al.</i> , (1991) (161) ^a
1991	EUA	F	70	Nódulo pulmonar 2 cm	Diaz <i>et al.</i> , (1991) (162)
1992	EUA	4M 6F	42-74	Nódulos pulmonares direito (7) e esquerdo (3) <4,5cm	Asimacopoulos <i>et al.</i> , (1992) (163)
1992	EUA			Nódulo pulmonar 5 pacientes	Nicholson <i>et al.</i> , (1992) (164) ^a
1993	EUA	M	63	Dois nódulos pulmonares direitos <1,5cm	Roy <i>et al.</i> , (1993) (165)
1995	EUA	M	62	Nódulo pulmonar	Jarrat, (1995) (166) ^a
1999	EUA	2M 2F	37-78	Nódulo pulmonar	Echeverri <i>et al.</i> , (1999) (167)
2001	EUA	M	82	Nódulo pulmonar esquerdo 1,3 cm	Bielawski <i>et al.</i> , (2001) (168)
2004	EUA			Nódulo pulmonar	Mumtaz <i>et al.</i> , (2004) (169) ^a
2005	EUA	M	55	Nódulo pulmonar direito	Foroulis <i>et al.</i> , (2005) (170)
2006	EUA	M	68	Nódulo pulmonar esquerdo 2,9 cm	Mulanovich <i>et al.</i> , (2008) (171)
2008	EUA	M	53	Nódulo pulmonar esquerdo 12 mm	Naik-Mathuria <i>et al.</i> , (2008) (172)
2013	EUA	M	76	Nódulo pulmonar direito 1,3cm	Biswas <i>et al.</i> , (2013) (173)
1993	França	F	75	Nódulo pulmonar	Monchy <i>et al.</i> , (1993) (174) ^a
2010	Grécia	M	52	Nódulo pulmonar	Miliaras <i>et al.</i> , (2010) (175)
2008	Itália	M	81	Nódulo pulmonar direito 1,5 cm	Solaini <i>et al.</i> , (2008) (176)
1964-1985	Japão			Nódulo pulmonar em 39 pacientes	Makiya <i>et al.</i> , (1985) (177) ^a
1968	Japão	M	42	Nódulo pulmonar esquerdo	Yoshimura <i>et al.</i> , (1968) (178) ^a
1987	Japão	M	50	Nódulo pulmonar direito 1 cm	Makiya <i>et al.</i> , (1987) (179) ^a
1988	Japão	F	56	Nódulo pulmonar esquerdo	Makiya <i>et al.</i> , (1988) (180) ^a

1989	Japão	F	62	Nódulo pulmonar direito 4 cm	Yamashiro <i>et al.</i> , (1989) (181) ^a
1991	Japão	M	63	Nódulo pulmonar esquerdo 2 cm	Kido <i>et al.</i> , (1991) (182)
1993	Japão	M	63	Nódulo pulmonar	Akaogi <i>et al.</i> , (1993) (183) ^a
1996	Japão	F	70	Nódulo pulmonar direito	Kuraki <i>et al.</i> , (1996) (184) ^a
1996	Japão	F	50	Nódulo pulmonar direito 1,5 cm e espessamento pleural	Miura <i>et al.</i> , (1996) (185) ^a
1999	Japão	4M 1F	52-71	Nódulo pulmonar direito <2,8 cm	Hiroshima <i>et al.</i> , (1999) (186)
2000	Japão	F	73	Nódulo pulmonar 2 cm	Sako <i>et al.</i> , (2000) (187) ^a
2001	Japão	F	76	Nódulo pulmonar 2 cm	Kojima <i>et al.</i> , (2001) (188) ^a
2002	Japão	F	53	Nódulo pulmonar + Efusão pleural	Yoshino <i>et al.</i> , (2003) (189)
2002	Japão	2M 2F	55-64	Nódulo pulmonar direito <2,5 cm	Hirano <i>et al.</i> , (2002) (190)
2004	Japão	M	42	Nódulo pulmonar	Mori <i>et al.</i> , (2004) (191)
2006	Japão	F	72	Nódulo pulmonar direito	Miyoshi <i>et al.</i> , (2006) (192)
2009	Japão	F	22	Nódulo pulmonar esquerdo 1,6 cm	Takayama <i>et al.</i> , (2009) (193) ^a
2009	Japão	F	52	Nódulo pulmonar direito 4 cm	Magono <i>et al.</i> , (2009) (194) ^a
2014	Japão			Nódulo pulmonar em 4 pacientes	Oshiro <i>et al.</i> , (2014) (195) ^a
2014	Japão	M	59	Nódulo pulmonar direito 1,8 cm	So <i>et al.</i> , (2014) (196)
2015	Japão	M	70	Nódulo pulmonar esquerdo	Takei <i>et al.</i> , (2015) (197) ^a
1984	Nova Zelândia	M		Nódulo pulmonar	Jagush <i>et al.</i> , (1984)(198) ^a
2013	Taiwan	F	53	Nódulo pulmonar	Li <i>et al.</i> , (2013) (199) ^a

^a – abstract.

ANEXO 2

Quadro 2: Características da infecção por *Dirofilaria immitis* em humanos com localização extrapulmonar.

Ano	País	Sexo	Idade	Localização	Referência
1974		?	Crianças	Convulsões epiteliformes e sinais de meningite	Dobson & Welch, (1974) (200) ^a
2013	Argentina	F		Periocular	Cuervo <i>et al.</i> , (2013) (201)
2008	Brasil	M	16	Câmara anterior do olho	Otranto <i>et al.</i> , (2011) (202)
2002	Coreia	M	39A	Nódulo hepático	Kim <i>et al.</i> , (2002) (203)
2008	Coreia	F	27 A	Nódulo periocular	Jamishidi <i>et al.</i> , (2008) (204)
2014	Croácia			Artéria Coronária	Pozgain <i>et al.</i> , (2014) (205) ^a
1941	EUA	F	73	Veia cava inferior	Faust <i>et al.</i> , (1941) (206)
1978	EUA	M		Câmara anterior olho	Moorehouse, (1978) (207, 208) ^a
2000	EUA			Nódulo na parede anterior abdominal	Skidmore <i>et al.</i> , (2000) (209) ^a
2001	EUA	M	28A	Ramo da artéria espermática	Theis, (2005) (79)
2013	França	F	48 A	Nódulo subcutâneo na perna	Foissac <i>et al.</i> , (2013) (210)
2015	Grécia	F	45	Nódulo subcutâneo na área subcostal à direita do hipocôndrio	Falidas <i>et al.</i> , (2015) (211)
1989	Índia		Criança	Cavernoma portal	Badhe & Shane, (1989) (212)
2011	Índia		27A	Nódulo intramuscular no ombro direito	Teerthanath & Hariprasad, (2011) (213) ^a
1979	Japão	M	74 A	Tecido adiposo mesentério	Tada <i>et al.</i> , (1979) (208)
1981	Japão	M	36A	Veia cava inferior e coração	Takeuchi <i>et al.</i> , (1981) (214) ^a
2003	Japão	M	44A	Efusão Pleural	Ogasawar <i>et al.</i> , (2003) (215) ^a
2006	Reino Unido	M	63	Intraperitoneal – região periumbilical	Abbas <i>et al.</i> , (2006) (216)

^a – abstract.

